

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS**

**Ingeniería en Biotecnología Marina y Acuicultura**

**Valorización en base a fucoxantina de descartes de la macroalga parda *Lessonia spicata* en la industria de los hidrocoloides como alternativa a la microalga *Phaeodactylum tricornutum* para su potencial uso como antioxidante en la industria nutracéutica**

POR: Guido Antonio Hernández Villagrán

Profesor Guía: Dr. Cristian Alberto Agurto Muñoz

Co-guía: Dr © Luis Villamarín Palmero

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción para optar al grado de Ingeniero en Biotecnología Marina y Acuicultura

Abril de 2025

Concepción, Chile.

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por siempre creer en mí. Por otorgarme la oportunidad de estudiar algo que me apasiona y darme todo su apoyo en el proceso. A mis amigos y compañeros, por estar en las buenas y en las malas, haciendo divertido todo error y gloria.

Le debo todo mi desarrollo académico de último año al laboratorio GIBMAR. Al Dr.© Nicolás Troncoso por acogerme y entregar las riendas de este proyecto, al Dr.© Luis Villamarín por su continua enseñanza y ser un pilar fundamental en la guía y tutoría de este proyecto y al Dr. Cristian Agurto por su guía y aceptación como un integrante más del grupo. A quienes me ayudaron durante el desarrollo de las actividades, grandes personas y futuros colegas que, además de enseñarme, me otorgaron parte de su tiempo con risas y gratos momentos; Dr. Cristian Rogel, Dra. Mónica Latorre, Dr. ©Álvaro Valdebenito y Dra. Jessy Pavón. ¡Estoy muy agradecido con ustedes! Y también a los demás investigadores que conforman parte del Grupo Interdisciplinario de Biotecnología Marina, fue un gusto entablar, aunque sea un saludo con cada uno.

Finalmente, dejando todo ego de lado. Agradecerme a mí mismo, por los altos y bajos. Que cuando pensaba que todo se iría a pique y me entraban las ganas de abandonar, persistí y salí adelante, por las ganas de aprender y saber que lo que uno se propone, se cumple. Concientizando que el proceso no es lineal y que todas las veces que creí que no podría fueron las que me impulsaron a lograr mis metas.

## ÍNDICE

1. Introducción.....	11
1.1. Antecedentes.....	11
1.1.1. Enfermedades crónicas no transmisibles.....	11
1.1.2. Industria de los nutracéuticos.....	14
1.2.3 Residuos industriales y su valorización.....	17
1.2.4 Algas pardas como recurso industrial.....	19
1.2.5 Microalgas como recurso industrial.....	22
1.2.6 Métodos de secado.....	23
1.2.6.1 Secado mediante aire caliente.....	24
1.2.6.2 Secado mediante Liofilización.....	24
2. Marco teórico.....	26
2.1 Radicales Libres y Especies Reactivas de Oxígeno.....	26
2.2 Estrés Oxidativo.....	27
2.3 Fucoxantina.....	29
2.3.1 Fucoxantina en Macroalgas.....	29
2.3.2 Fucoxantina en Microalgas.....	30
2.3.3 Avances e interés de la fucoxantina.....	33
2.4 Métodos de extracción.....	35
2.4.1 Maceración dinámica (ME).....	36
2.4.2 Extracción Soxhlet (SAE).....	36
2.4.4 Extracción asistida por ultrasonido (UAE).....	38
2.4.5 Extracción por fluidos supercríticos (SFE).....	39
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	42
3.3 Objetivo general:.....	42
3.4 Objetivos específicos:.....	42
4. METODOLOGÍA.....	44
Actividad 4.1.1 Recolección y procesamiento de la macroalga <i>Lessonia spicata</i> .....	44
Actividad 4.1.2 Evaluación de métodos de secado.....	45
4.1.2.1 Secado en estufa.....	45
4.1.2.2 Secado por deshidratación.....	45
4.1.2.3 Secado al vacío.....	45
4.1.2.4 Secado de Liofilización.....	47
Actividad 4.1.3 Pulverización de algas.....	47
Actividad 4.1.4 Determinación del contenido de fucoxantina en biomasa seca por HPLC.....	48
4.1.4.1 Preparación de extractos.....	48
4.1.4.2 Determinación de fucoxantina.....	48
4.1.4.3 Elaboración de curva de calibración de fucoxantina para C18.....	50
Actividad 4.1.5 Análisis estadístico.....	51
Actividad 4.2.1 Extracción de alginato de sodio mediante maceración.....	

dinámica .....	52
Actividad 4.3.1 Evaluación de métodos de extracción .....	53
4.3.1.1 Método de Maceración Dinámica.....	53
4.3.1.2 Método de extracción por soxhlet .....	54
4.3.1.3 Método de extracción por fluido supercrítico CO2 .....	55
4.4.1 Ensayo DPPH .....	56
4.4.2 Ensayo ABTS.....	57
4.4.3 Ensayo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, por sus siglas en inglés).....	59
6.1 Selección del método de secado más eficiente.....	83
6.2 Simulación de biomasa industrial: extracción de alginato .....	85
6.4 Determinación de la capacidad antioxidante .....	89
7. Conclusiones y Proyecciones.....	91
7.1.1 Método de Secado Seleccionado .....	91
7.1.2 Simulación de biomasa residual .....	91
7.1.3 Método de Extracción Seleccionado.....	92
7.1.4 Capacidad Antioxidante del Concentrado de Fucoxantina .....	92
8. Referencias .....	94
9. Anexos.....	100

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> PROYECCIONES DEL MERCADO DE NUTRACÉUTICOS 2020 – 2030. FUENTE: GRAND VIEW RESEARCH, INC (2020). .....	15
<b>FIGURA 2.</b> ANÁLISIS DE NORMALIDAD PARA LA CONCENTRACIÓN DE FUCOXANTINA; VARIABLE FX UGML-1 (DATOS SIN TRANSFORMACIÓN ESTADÍSTICA). SOFTWARE STATISTICA 4.1 .....	63
<b>FIGURA 3.</b> A) RECUPERACIÓN DE CONTENIDO DE FUCOXANTINA EN BIOMASA SECA MEDIANTE DIFERENTES MÉTODOS DE SECADO A 40° COMPARADO CON MÉTODO POR LIOFILIZACIÓN; B) RECUPERACIÓN DE CONTENIDO DE FUCOXANTINA EN BIOMASA SECA MEDIANTE DIFERENTES MÉTODOS DE SECADO A 50° COMPARADO CON MÉTODO POR LIOFILIZACIÓN; C) RECUPERACIÓN DE CONTENIDO DE FUCOXANTINA EN BIOMASA SECA MEDIANTE DIFERENTES MÉTODOS DE SECADO A 60° COMPARADO CON MÉTODO POR LIOFILIZACIÓN.. .....	67
<b>FIGURA 4.</b> CONCENTRACIÓN DE FUCOXANTINA EXTRAÍDA EXPRESADA EN UG ML <sup>-1</sup> DESDE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN EVALUADOS PARA CADA GRUPO DE MUESTRA.....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. BENEFICIOS ANTIOXIDANTES TERAPÉUTICOS DE PRODUCTOS NUTRACÉUTICOS. TOMADO DE LEONARD, H. P. (2006) CON MODIFICACIONES.....	41
TABLA 2. GRADIENTE DE ELUCIÓN EMPLEADO EN HPLC; ACETONITRILLO (A) Y H <sub>2</sub> O GRADO HPLC (B) .....	49
TABLA 3. ELABORACIÓN DE CURVA DE CALIBRADO DE TROLOX PARA DPPH.....	57
TABLA 4. ELABORACIÓN DE CURVA DE CALIBRADO DE TROLOX PARA ABTS .....	58
TABLA 5. ELABORACIÓN DE CURVA DE CALIBRADO DE TROLOX PARA FRAP.....	60
TABLA 6. TRATAMIENTOS DE SECADO APLICADOS EN LA MACROALGA LESSONIA SPICATA Y SU RENDIMIENTO EN CONTENIDO DE FUCOXANTINA .....	62
TABLA 7. ANOVA: CONCENTRACIONES DE FX [UG/G BS] EN FUNCIÓN DE TRATAMIENTOS DE SECADO Y TEMPERATURA.....	64
TABLA 8. TEST DE TUKEY APLICADO EN DIFERENTES TRATAMIENTOS DE SECADO PARA LA MACROALGA PARDA LESSONIA SPICATA.....	65
TABLA 9. COMPARACIÓN DE RECUPERACIÓN DE FUCOXANTINA (μG G BS-1) ± SD EN DISTINTOS MÉTODOS DE SECADO DESDE EL ÁMBITO COMPETITIVO CON LA METODOLOGÍA INDUSTRIAL.....	69
TABLA 10. COMPARACIÓN DE FX ENTRE LESSONIA (DESHIDRATADA A 40°C) Y SARGASSUM (SECADA AL SOL) BAJO PRUEBA DE T-STUDENT .....	70
TABLA 11. ANÁLISIS DE VARIANZA DE UNA VÍA DE DATOS OBTENIDOS DESDE LAS MUESTRAS DE FUCOXANTINA MEDIANTE EXTRACCIÓN SFE.....	74
TABLA 12. FUCOXANTINA EN DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE FUCOXANTINA EN BIOMASA CON Y SIN ALGINATOS .....	75
TABLA 13. VARIACIÓN DE LA VALORIZACIÓN PARA LA PRODUCCIÓN DE FUCOXANTINA, SEGÚN EL PRODUCTO COMERCIAL PROMEDIO DE LA INDUSTRIA NUTRACÉUTICA .....	75
TABLA 14. ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTES DE FUCOXANTINA OBTENIDA DESDE EXTRACCIÓN SFE Y SFE-E. MEDIDAS EN UNIDADES DE TROLOX EQUIVALENTES (μM TE).....	80

## Resumen

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) representan el 85% de las muertes en Chile y están asociadas al estrés oxidativo (EO) causado por radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (EROs). Ante la baja adherencia a terapias farmacológicas, se ha propuesto un enfoque nutricional basado en el consumo de compuestos bioactivos antioxidantes, destacando las algas como fuente potencial. La fucoxantina, un carotenoide presente en algas pardas, posee propiedades antioxidantes con capacidad para eliminar RL; sin embargo, su extracción es compleja debido a variaciones en el rendimiento y dificultades en su síntesis química. Este estudio evaluó la eficiencia de diferentes métodos de secado y extracción de fucoxantina a partir de la macroalga parda *Lessonia spicata*, con el fin de optimizar su recuperación y valorización dentro de la industria de biorefinería de macroalgas.

Se recolectó y procesó *L. spicata*, aplicando diversas técnicas de secado (aire caliente, deshidratación, vacío y liofilización) en comparación con el secado industrial al sol. Posteriormente, se simuló la biomasa residual derivada del proceso de extracción de alginato de sodio y se sometió a tres métodos de extracción de fucoxantina: maceración dinámica, Soxhlet y fluidos supercríticos (SFE). La capacidad antioxidante de los extractos se evaluó mediante ensayos DPPH, ABTS y FRAP.

Los resultados indicaron que el secado por deshidratación a 40°C fue el más eficiente ( $272,21 \pm 28,64 \text{ ugFx gBS-1}$ ;  $p < 0.01$ ), superando significativamente la metodología industrial ( $100,40 \pm 39,72 \text{ ugFx gBS-1}$ ). El residuo prototipo permitió extraer un 17,32% de alginato en 80 g de biomasa seca, comparado con el 24,4% de la metodología industrial. La extracción mediante SFE fue la más eficaz, obteniendo  $30,187 \text{ ug gBS-1}$  de fucoxantina valorizables en 1006 cápsulas desde residuos industriales y  $47,66 \pm 9,64 \text{ ug gBS-1}$  en 1589 cápsulas desde el prototipo. En cuanto a la actividad antioxidante, el residuo industrial mostró mayor capacidad en DPPH ( $273,44 \text{ } \mu\text{M TE}$ ) y ABTS ( $107,19 \text{ } \mu\text{M TE}$ ), mientras que el prototipo SFE presentó mayor capacidad reductora en FRAP ( $202,28 \text{ } \mu\text{M TE}$ ) frente a la biomasa residual industrial ( $180,16 \text{ } \mu\text{M TE}$ ) y mayor capacidad en general en comparación con la cepa nativa de *P. tricornutum* ( $62,14 \pm 13,51 \text{ } \mu\text{M TE}$  en DPPH;  $11,95 \pm 4,01 \text{ } \mu\text{M TE}$  en ABTS;  $31,33 \pm 1,53 \text{ } \mu\text{M TE}$  en FRAP) y la su cepa sobreproductora ( $62,64 \pm 9,17 \text{ } \mu\text{M TE}$  en DPPH;  $12,28 \pm 1,09 \text{ } \mu\text{M TE}$  en ABTS;  $27,67 \pm 3,06 \text{ } \mu\text{M TE}$  en FRAP). Se concluye que, aunque *L. spicata* presenta menor contenido de fucoxantina que *Phaeodactylum*

*tricornutum*, su potencial antioxidante es superior, lo que la posiciona como una alternativa viable para su aprovechamiento en la industria nutracéutica.

**Palabras Clave:** Fucoxantina, nutracéuticos, antioxidante, macroalga, *Lessonia*.

## Abstract

Non-communicable chronic diseases (NCDs) account for 85% of deaths in Chile and are associated with oxidative stress (OS) caused by free radicals (FR) and reactive oxygen species (ROS). Due to low adherence to pharmacological therapies, a nutritional approach based on the consumption of bioactive antioxidant compounds has been proposed, highlighting algae as a potential source. Fucoxanthin, a carotenoid present in brown algae, has antioxidant properties capable of eliminating FR; however, its extraction is complex due to variations in yield and difficulties in its chemical synthesis. This study evaluated the efficiency of different drying and extraction methods for fucoxanthin from the brown macroalga *Lessonia spicata*, aiming to optimize its recovery and valorization within the macroalgae biorefinery industry.

*L. spicata* was collected and processed using various drying techniques (hot air, dehydration, vacuum, and lyophilization) compared to industrial sun drying. Subsequently, the residual biomass derived from the sodium alginate extraction process was simulated and subjected to three fucoxanthin extraction methods: dynamic maceration, Soxhlet, and supercritical fluid extraction (SFE). The antioxidant capacity of the extracts was evaluated using DPPH, ABTS, and FRAP assays.

The results indicated that dehydration drying at 40°C was the most efficient method ( $272.21 \pm 28.64$  ugFx gBS-1;  $p < 0.01$ ), significantly surpassing the industrial methodology ( $100.40 \pm 39.72$  ugFx gBS-1). The prototype residue enabled the extraction of 17.32% alginate from 80 g of dry biomass, compared to 24.4% in the industrial methodology. SFE was the most effective extraction method, obtaining 30.187 ug gBS-1 of fucoxanthin, which could be valued in 1006 capsules from industrial residues and  $47.66 \pm 9.64$  ug gBS-1 in 1589 capsules from the prototype. Regarding antioxidant activity, the industrial residue showed higher capacity in DPPH (273.44  $\mu$ M TE) and ABTS (107.19  $\mu$ M TE), while the SFE prototype exhibited higher reducing capacity in FRAP (202.28  $\mu$ M TE) compared to industrial residual biomass (180.16  $\mu$ M TE) and overall higher capacity compared to the native strain of *P. tricornutum* ( $62.14 \pm 13.51$   $\mu$ M TE in DPPH;  $11.95 \pm 4.01$   $\mu$ M TE in ABTS;  $31.33 \pm 1.53$   $\mu$ M TE in FRAP) and its overproducing strain ( $62.64 \pm 9.17$   $\mu$ M TE in DPPH;  $12.28 \pm 1.09$   $\mu$ M TE in ABTS;  $27.67 \pm 3.06$   $\mu$ M TE in FRAP). It is concluded that, although *L. spicata* has a lower fucoxanthin content than *Phaeodactylum tricornutum*, its

antioxidant potential is superior, positioning it as a viable alternative for utilization in the nutraceutical industry.

**Keywords:** Fucoxanthin, nutraceuticals, antioxidant, seaweed, *Lessonia*.

## **1. Introducción**

En el siguiente estudio, se abordará el creciente interés en la investigación y desarrollo de la molécula de fucoxantina, que ofrece aplicación contra el estrés oxidativo y contribuir a la prevención de las ECNT. Pero esta molécula implica grandes desafíos en su producción; lo que lleva a buscar antecedentes para entender su comportamiento y aprovechamiento de las fuentes desde donde se puede extraer aplicando métodos que no dañen los ecosistemas e integren medidas de prevención ante la sobreexplotación de recursos naturales desde un punto de vista biotecnológico.

### **1.1. Antecedentes**

#### **1.1.1. Enfermedades crónicas no transmisibles**

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son afecciones de larga duración que no se transmiten de persona a persona y que suelen desarrollarse lentamente, siendo el resultado de una combinación de factores genéticos, ambientales y de comportamiento. Constituyendo un problema de salud pública creciente para individuos y gobiernos, porque han aumentado mucho en las últimas décadas. De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (OPS), las ECNT son la causa del 70% de las muertes a nivel global, siendo más prevalentes en países de ingresos bajos y medianos, donde la transición epidemiológica ha demostrado el desplazamiento de las enfermedades infecciosas hacia las crónicas. Entre las principales ECNT se encuentran las enfermedades cardiovasculares (17,9 millones de muertes), el cáncer (9 millones), las enfermedades respiratorias crónicas (3,9 millones) y la diabetes mellitus (1,6 millones) (Vargas et al., 2023; OMS, 2020). En Chile, por ejemplo, las ECNT representan el 85% de las muertes totales, con enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes como las principales causas de mortalidad (Ministerio de Salud, 2019).

Estas patologías están fuertemente vinculadas a estilos de vida no saludables, como el consumo excesivo de tabaco y alcohol, una alimentación rica en productos ultraprocesados, el sedentarismo y la baja ingesta de alimentos naturales. Sin embargo, estos factores no pueden ser considerados de manera aislada, ya que están fuertemente condicionados por determinantes sociales, como el acceso limitado a alimentos saludables, las desigualdades económicas y la falta de políticas públicas que promuevan entornos saludables (Marmot, 2005). No obstante, este tipo de conductas promueve la sobreproducción de radicales libres (RL) en el organismo, cuya acumulación tiene efectos nocivos, ya que daña estructuras biológicas y contribuye al desarrollo de un estado celular denominado estrés oxidativo (EO) (Organización Panamericana de la Salud, 2018).

Las ECNT no solo constituyen una carga en términos de salud pública, sino que también representan un desafío económico significativo. A nivel global, los costos asociados al tratamiento de estas enfermedades se estiman en billones de dólares, afectando no solo a los sistemas de salud, sino también a la productividad laboral (Bloom et al., 2011). En Chile, los costos derivados de las ECNT han aumentado considerablemente en la última década, representando una parte importante del presupuesto destinado a salud pública (Ministerio de Salud, 2021)."

Dado que las terapias farmacológicas convencionales han mostrado limitaciones a la hora de abordar estas enfermedades (Rojas Jiménez et al., 2015), surge la necesidad de adoptar enfoques terapéuticos alternativos. En este contexto, la nutrición es clave para prevenir estas afecciones, como se evidencia en estudios que han mostrado la adopción de patrones

alimentarios basados en el consumo de alimentos ricos en compuestos bioactivos. Como, por ejemplo, la dieta mediterránea o la dieta DASH han logrado reducir significativamente la incidencia de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 (Estruch et al., 2013; Appel et al., 1997). El enfoque clínico tradicional se centra en la reducción de signos y síntomas de las patologías crónicas; pero la prevención de las ECNT requiere un cambio de perspectiva hacia la incorporación de alimentos naturales con propiedades protectoras frente al estrés oxidativo, factor clave en la patogénesis de las ECNT. Por consiguiente, se ha propuesto que una dieta rica en estos compuestos puede prevenir o retrasar el deterioro celular y funcional del organismo. En esa misma línea, los antioxidantes desempeñan un papel fundamental en la eliminación de carcinógenos, la inhibición de pre-carcinógenos y la reparación del daño al ADN. Además, los alimentos frescos y crudos son más ricos en estos nutrientes para neutralizar radicales libres que los procesados y ultra procesados, ya que durante la preparación de estos últimos se incrementa su exposición al oxígeno (Alomar, 2007).

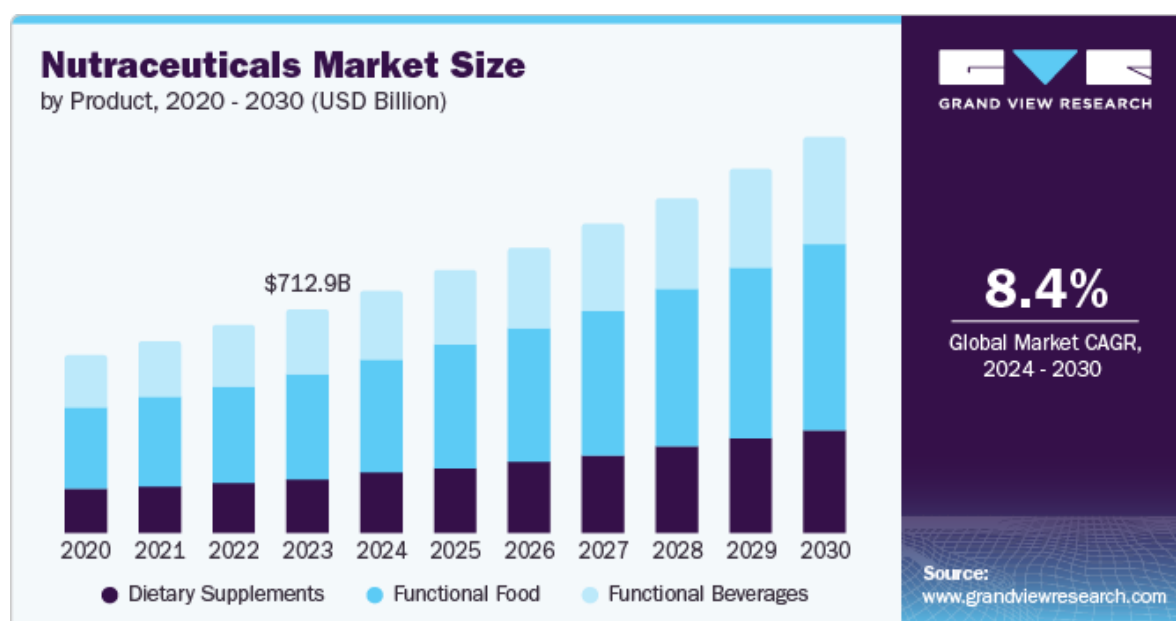
Se plantean interrogantes clave, como la identificación y el uso sostenible de los recursos naturales, y la necesidad de investigar sobre el potencial de ciertos compuestos bioactivos en la industria nutracéutica que pueden contribuir a prevenir enfermedades crónicas no transmisibles derivadas del estrés oxidativo.

### **1.1.2. Industria de los nutraceuticos**

Dentro de las alternativas para la ingesta de compuestos beneficiosos, hay tres formatos de venta que mantienen una relación, pero su finalidad se aprovecha de manera diferente. Al hablar de suplementos dietarios, se refiere a productos con vitaminas y minerales usados principalmente para complementar o mejorar la ingesta de nutrientes de los alimentos. Por otro lado, los alimentos funcionales tienen componentes bioactivos que, además de sus propiedades nutricionales fundamentales, brindan beneficios adicionales para la salud. Finalmente, los nutraceuticos son formulaciones concentradas, o ricos en, que derivan de alimentos naturales proporcionando beneficios para la salud más allá de su valor nutricional básico. Generalmente se presentan en formato de cápsulas o polvo. El alcance de los nutraceuticos en la industria se ha impulsado por sus beneficios en la salud, donde se generan oportunidades tanto en sus aplicaciones como en sus tendencias de obtención y consumo (Rojas Jiménez et al., 2015a). Estos productos se posicionan entre los alimentos y medicamentos, ofreciendo una alternativa natural para la prevención y tratamiento de diversas patologías (Kalra, E.K., 2003). En contribución al rol preventivo que posee una alimentación saludable frente a las ECNT, la formulación de compuestos aislados desde alimentos orgánicos ha dejado diversas opciones de fuentes de nutraceuticos.

Los nutraceuticos con el tiempo han aumentado su facilidad comercial, comprendida como la diversidad de productos y múltiples formas de comercialización. Lo anterior se debe a que la función de estos compuestos promueve el autocuidado. Las personas afectas por ECNT han incorporado una práctica frecuente de su consumo al ser una opción segura para el manejo de este tipo de patologías (Rojas Jiménez et al., 2015b). Según el

reporte de Grand View Research (Fig.1), el tamaño del mercado global de nutraceuticos se valoró en 712,97 mil millones de dólares en 2023 y se espera que crezca a una tasa compuesta anual (CAGR) del 8,4% desde 2024 hasta 2030. Los principales factores que impulsan el crecimiento del mercado son la atención preventiva en salud, el aumento de los casos de trastornos relacionados con el estilo de vida y el creciente enfoque del consumidor en dietas que promueven la salud (Grand View Research, Inc, 2020).



**Figura 1.** Proyecciones del Mercado de Nutraceuticos 2020 – 2030. Fuente: Grand View Research, Inc (2020).

Diversos ensayos clínicos demuestran la efectividad de sustancias naturales en alimentos vegetales y algas, como es el caso de la actividad de las isoflavonas de soya (*Glycine max*) en la terapia hormonal substitutoria (Salinas et al., 2017). También, se establece que los polifenoles evitan la oxidación del LDL, reduciendo la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Quiñones, M. et al., 2012). Bajo una revisión bibliográfica, se explican diversos métodos de obtención de nutraceuticos y su potencial visto desde el ámbito medicinal. Bidegain et. al. (2014), explican la importancia de la optimización de la producción del hongo medicinal Reishi

(*Ganoderma lucidum*), organismo que produce compuestos bioactivos aplicables en la elaboración de alimentos funcionales, suplementos dietarios y fitoterápicos. López Martínez (2021), evaluó la composición nutricional y antioxidante de tres especies de Anonáceas: guanábana (*A. muricata*), chirimoya (*A. cherimola*) y chincuya (*A. purpurea*), también determinó la toxicidad de extractos metanólicos de pulpa, cáscara, semillas y hojas de estas especies a través de un bioensayo con *Artemia salina*, contribuyendo al conocimiento científico de especies con potencial nutracéutico y económico de México. Por último, Restrepo (2015), se refirió a la potente presencia de actividad antioxidante en algas pardas destacando las especies *Sargassum filipendula* y *Dictyota caribaea* por su abundante contenido de fucoxantina, empleando métodos de extracción, purificación y posterior análisis constituyéndose como promisorias en producción de este pigmento.

Para facilitar la comprensión de las acciones terapéuticas que cumplen los nutracéuticos, incluyendo su forma de obtención, se detalla información en **Tabla 1.**

### **1.2.3 Residuos industriales y su valorización**

El Estado de Chile se ha encargado de entregar atribuciones al Ministerio del Medio Ambiente para regular la prevención en la generación de residuos e incentivar su utilización como recursos. En 2020, se declararon cerca de 20 millones de toneladas de residuos, de los cuales el 96% representan residuos no peligrosos y un 3,1% de residuos peligrosos; donde un 55,6% de los residuos no peligrosos provienen de origen industrial. De este total, el 79 % se eliminó y el 21 % se valorizó. Si bien los vertederos y rellenos sanitarios en los que se distribuyen los descartes industriales cumplen con las exigencias sanitarias y ambientales, Chile presenta cada vez más desafíos para gestionar los residuos.

Las industrias que generen o recepcionen residuos no peligrosos sobre 12 toneladas al año deben declarar ante el Sistema de Declaración y Seguimiento de Residuos (SINADER); impuesto desde el 2013. Esta declaración es regulada por el artículo 26 del D.S N°1/2013 MMA (Ministerio del Medio Ambiente, 2020). Dentro de esta clasificación, la industria acuícola genera un estimado sobre las 500.000 toneladas (Sistema de Declaración y Seguimiento de Residuos (SINADER), 2021).

Al aplicarse estos conceptos a industrias que trabajan con biomasa, como es la industria de las macroalgas, se obtienen residuos ricos en ciertos nutrientes que pueden ser aprovechados siguiendo la idea de una biorrefinería (Muñoz-Muñoz, R., 2018). La industria acuícola se ha consolidado como un referente en la valorización de residuos, promoviendo su aplicación en diversas áreas como la alimentación, la agricultura, la cosmetología y los nutraceuticos. Este enfoque se refleja en múltiples proyectos de investigación que exploran el aprovechamiento de subproductos con alto potencial. Un ejemplo destacado es el liderado por la

Dra. Catalina Landaeta, investigadora de la Universidad de Chile, quien ha desarrollado un método para la producción de una proteína alternativa con propiedades probióticas a partir de algas marinas, con aplicaciones en la industria alimentaria (Beauchef Magazine, 2022).

Asimismo, se han impulsado iniciativas orientadas al uso de residuos de la salmonicultura en el ámbito agrícola. En este contexto, el Congreso Nacional de Chile presentó ante la Comisión de Intereses Marítimos, Pesca y Acuicultura un proyecto liderado por Enrique Vivanco, en el cual se propone la valorización térmica de lodos provenientes de la piscicultura para la fabricación de pellets destinados al sector ganadero, como una alternativa sostenible a los combustibles fósiles actualmente utilizados (BCN, 2023).

#### **1.2.4 Algas pardas como recurso industrial**

Entre las diversas opciones vegetales, las algas se destacan como una excelente fuente de nutrientes, que incluyen proteínas, vitaminas, minerales y fibra dietética. Además, estos organismos sintetizan metabolitos secundarios con actividades bioactivas, de las que la actividad antioxidante es de las más relevantes.

Debido a sus propiedades nutritivas y bioactivas, las algas se han convertido en una fuente de gran interés, tanto para su uso como ingredientes funcionales en alimentos, como para diversas aplicaciones industriales. En este contexto, la identificación y extracción de antioxidantes naturales alternativos está ganando relevancia. Existe un creciente interés por evaluar extractos algales en investigaciones centradas en las propiedades promotoras de la salud, destacando las que enfatizan la capacidad antioxidante de carotenoides utilizados para incrementar la estabilidad oxidativa y mantener o potenciar la calidad intrínseca y el valor nutricional de los alimentos (Consuegra, 2014).

El comercio de algas en Chile se integra en una cadena de valor global, liderada por multinacionales que se dedican a la producción de alginato, el polisacárido más abundante en las algas pardas. Este compuesto comprende entre el 20% y el 40% del peso seco de estas algas, otorgándoles propiedades como rigidez, elasticidad, flexibilidad, y capacidad para retener agua (Avendaño-Romero et al., 2013). Destacado por sus propiedades químicas, físicas y biológicas; el alginato está presente en diversas aplicaciones en una infinidad de áreas diferentes como la industria farmacéutica, la industria química, la industria textil, la industria de la congelación, la industria gastronómica, la inmovilización de células y enzimas, la liberación controlada de biomoléculas, la industria biomédica y

su más reciente uso en la bioimpresión 3D dentro de la medicina regenerativa (Hurtado, A et al., 2020). En los procedimientos de extracción de alginato, independientemente de que sea convencional o novedoso pueden distinguirse tres etapas fundamentales: (a) pre-tratamiento del alga, (b) extracción y (c) purificación (Gómez-Matos et al., 2023). Durante los últimos años, más del 90% de la biomasa de alginofitas se ha extraído en Chile, con una producción de alginatos que no alcanza a cubrir las demandas internas de los países sudamericanos (FAO, FAO Aquaculture Newsletter N° 56, April 2017).

A nivel nacional, la pesquería de macroalgas pardas ha aumentado inéditamente en los desembarques, obtenidos sobre todo en la zona norte del país; extendiéndose desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región de los Lagos (Márquez & Vásquez, 2020). Las estadísticas del Servicio Nacional de Pesca (Sernapesca, año 2020), indican que durante los últimos 10 años (2010-2020) se han desembarcado cerca de 4,4 millones de toneladas de algas en nuestro país, casi el 50% del total sólo lo concentra el Huiro negro (*Lessonia berteroa* y *Lessonia spicata* 2,1 millón de toneladas), seguido por el Pelillo (*Agarophyton chilense*) con 615 mil toneladas, Huiro Palo (*Lessonia trabeculata*) con 605 mil toneladas) y Luga negra (*Sarcothalia crispata*) con 344 mil toneladas (Macaya, E. 2022). La biomasa destinada a la industria del alginato es secada, enfardada y vendida a comerciantes intermediarios en playa, que las llevan a plantas picadoras y procesadoras ubicadas principalmente entre las regiones de Antofagasta y Valparaíso (Subpesca, 2018). Entre las especies de algas más utilizadas para esta industria son las algas pardas del género *Lessonia*, una de las más dominantes en Chile y siendo de mayor importancia para la pesquería (Rosenfeld et al., 2019).

Dado que *Lessonia spicata* es rica en diversos compuestos bioactivos, las

partes no utilizadas y la biomasa residual generada por la industria de hidrocoloides representan una fuente potencial para la extracción de fucoxantina, un compuesto de gran interés por sus propiedades antioxidantes.

### 1.2.5 Microalgas como recurso industrial

Las microalgas han sido un recurso biotecnológico clave en diversas industrias por su capacidad de producir compuestos bioactivos de alto valor. Estos microorganismos fotosintéticos se caracterizan por su rápido crecimiento y su capacidad para sintetizar lípidos, proteínas, pigmentos y polisacáridos con aplicaciones en la industria alimentaria, nutracéutica, cosmética, farmacéutica y energética. Especies como *Chlorella*, *Spirulina* y *Phaeodactylum tricornutum* han demostrado un gran potencial en la producción de suplementos antioxidantes, ácidos grasos esenciales y biocombustibles sostenibles. Su cultivo, además, ofrece ventajas ambientales significativas, como la captura de CO<sub>2</sub> y el uso eficiente de recursos, lo que las posiciona como una alternativa innovadora y sostenible frente a las fuentes tradicionales de biomasa.

*Phaeodactylum tricornutum* es una diatomea ampliamente estudiada por su capacidad de producir compuestos bioactivos con aplicaciones en la industria de los nutracéuticos, la acuicultura y la biotecnología. Se considera como una especie modelo en cultivo ya que posee un amplio rango de tolerancia a factores ambientales, capaz de crecer en condiciones mixotróficas. Cuenta con un gran potencial de producción a gran escala por su tasa de crecimiento y fácil procesamiento biotecnológico debido a que posee una pared celular reducida en comparación a otras diatomeas y se adapta bien a cultivos en agua de mar enriquecida con nutrientes o en sistemas de producción de biomasa a gran escala. Como parámetros importantes, es necesario ofrecer medios sintéticos (F/2, Walne o Guillard con sales de N y K), así como una aireación constante y una temperatura entre los 15-25°C con intensidades de luz moderadas (Cerón García & M. del C., 2002). Además, posee un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados y carotenoides, como la fucoxantina; la fucoxantina

representa entre el 1-6% del peso seco de la diatomea, siendo cien veces superior a la producción de las macroalgas pardas (Yang & Wei, 2020).

### **1.2.6 Métodos de secado**

El secado es un proceso que se encuentra en casi todos los sectores industriales, desde los agrícolas a los farmacéuticos. Es seguramente la operación unitaria más antigua, común, diversa e intensiva energéticamente. Sin embargo, no todas las tecnologías de secado son necesariamente óptimas en términos de consumo de energía, calidad del producto deshidratado, seguridad de operación, capacidad de controlar el secador durante posibles fallas en el proceso o impacto ambiental.

La metodología de secado involucra una serie de cambios físicos, químicos y sensoriales en el alimento que dependen de la composición de este, así como de la severidad del método empleado. Ejemplos de estos cambios son, encogimiento, cristalización, despolimeración, variación de color, sabor, textura, viscosidad, velocidad de reconstitución, valor nutritivo y estabilidad en el almacenamiento.

Las técnicas de secado más estudiadas y utilizadas en algas son el secado al sol, el secado convectivo y la liofilización. Cabe destacar que, al someterlas a un secado natural (al sol) ocasiona que las algas se contaminen con la suciedad del medio exterior y el proceso sea parcialmente eficaz debido a las condiciones climáticas y la porción que no recibe la exposición directa al cuerpo caliente (Cáceres, J., 2021a).

### **1.2.6.1 Secado mediante aire caliente**

Es el proceso que comprende la eliminación de agua disponible de un alimento, mediante el tratamiento del producto por calor artificial o aire previamente calentado con la finalidad de controlar las fuerzas biológicas y retardar la acción de microorganismos. La reducción del contenido de humedad -del producto- previene el crecimiento de microorganismos y disminuye o minimizan las demás reacciones que lo deterioran. Al desecar un sólido húmedo con aire caliente, el aire aporta el calor sensible y el calor latente de la evaporación de la humedad y también actúa como gas portador para eliminar el vapor de agua que se forma en la vecindad de la superficie de evaporación. Generalmente, estos dispositivos pueden disponer de reguladores para controlar la velocidad de aire nuevo y la cantidad de aire de recirculación, por lo que el calor controlado puede desnaturalizar parcialmente las membranas celulares, facilitando la liberación de compuestos lipofílicos como la fucoxantina desde los plastidios; donde está contenida (Yupanqui & Torres, 2018a).

### **1.2.6.2 Secado mediante Liofilización**

La liofilización es un proceso de secado por sublimación, paso directo de hielo (tras una previa congelación del alimento) a vapor aplicando vacío (0.000987 atm) sin pasar por el estado líquido. La virtud fundamental de un producto liofilizado es que, al contactar nuevamente con el líquido, el agua sublimada, recupera todas las características. Además, si se almacena adecuadamente reduce la pérdida de calidad debidas a las reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático (Cáceres, J., 2021b). Su proceso incluye: Congelación inicial; donde el material es congelado a temperaturas muy bajas (-40 a -80°C), formando cristales de hielo dentro de las células. Sublimación; donde al darse una condición de vacío, el hielo se sublima al aplicar calor leve, dejando la matriz celular deshidratada. Por último, el

secado secundario; el cual reduce el agua residual ligada a nivel molecular mediante un calentamiento controlado. El producto liofilizado se caracteriza por una preservación de compuestos bioactivos y una estructura celular conservada, manteniéndose casi intactas (Yupanqui & Torres, 2018b).

## 2. Marco teórico

### 2.1 Radicales Libres y Especies Reactivas de Oxígeno

Los RL, especie química con uno o más electrones desapareados en el orbital externo, generalmente inestable, caracterizada por su gran reactividad y por la capacidad de formación de radicales libres por reacciones químicas en cadena; pues participa en mecanismos que inducen al proceso oxidativo de biomoléculas como ácidos nucleicos, proteínas y lípidos e inhiben su estructura y funcionalidad, contribuyendo al déficit de defensas antioxidantes. Existe un término que incluye a los radicales libres y moléculas derivadas del oxígeno de interés biológico con una elevada reactividad que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes prooxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (EROS) (Venereo-Gutiérrez, 2002). Como se menciona anteriormente, se producen durante las reacciones metabólicas, mientras las células del organismo transforman los alimentos en energía especialmente en situaciones de hiperoxia, ejercicio intenso e isquemia y también por exposición a determinados agentes externos como las radiaciones ionizantes o luz ultravioleta, contaminación ambiental, humo del tabaco, etc. Entre los radicales libres del oxígeno existen dos segmentos: orgánicos e inorgánicos. Por parte de los orgánicos destacan como los más importantes el radical peróxido (ROO<sup>-</sup>), el hidroperóxido orgánico (ROOH) y los lípidos peroxidados. Mientras que, por parte de los inorgánicos, se destacan el oxígeno molecular (O<sub>2</sub>), el radical-anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), el radical hidroxilo (HO<sup>-</sup>) y su precursor inmediato el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Elejalde, J., 2001). Aunque en todos los procesos metabólicos inherentes al organismo se producen pequeñas cantidades de radicales libres (RL), como sucede en el retículo endoplasmático, las microsomas y los peroxisomas, la fuente endógena de especies reactivas más importante es el sistema mitocondrial de transporte de electrones, donde las ROS se generan como producto

secundario del metabolismo energético oxidativo (Martínez, C. et al., 2003). Sin embargo, se ha definido un control homeostático en la célula para verificar el nivel de ROS en condiciones normales (Singh et al., 2019).

## **2.2 Estrés Oxidativo**

El EO resulta de reacciones metabólicas con oxígeno y alteran el equilibrio prooxidante-antioxidante en los sistemas biológicos, provocando cambios fisiológicos y bioquímicos que causan deterioro y muerte celular (Rodríguez, P. et al., 2001). En consecuencia, se ha establecido que un grado moderado de estrés oxidativo es suficiente para provocar dicha defunción de las células, así como una oxidación moderada puede desencadenar apoptosis, mientras que, en grados mayores induciría a una necrosis (Viada Pupo, 2017). Los efectos del EO se miden según la capacidad de la célula de interponerse a estos mecanismos, recuperando su estado original. Para mantener el equilibrio prooxidante-antioxidante, los seres vivos están provistos naturalmente de mecanismos de “regulación oxido-reducción” que combaten el EO a través de los antioxidantes (AOX) y los captadores de RL, estos incluyen enzimas como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, así como antioxidantes no enzimáticos como la vitamina C y E. Sin embargo, factores como la dieta, el estilo de vida y la exposición ambiental pueden influir en la efectividad de estas defensas (Pérez-Jiménez et al., 2010).

El EO se ha vinculado con las enfermedades crónicas como una causa porque las EROS radicales y no radicales afectan a varias funciones fisiológicas y participan en desarrollar de ECNT con impacto epidemiológico. Las enfermedades pueden clasificarse en tres grupos: el primero es causado por prooxidantes que alteran el estado redox y alteran la tolerancia a la glucosa, lo que favorece el EO mitocondrial en enfermedades como el cáncer y la diabetes mellitus; el segundo es el EO de tipo inflamatorio y da un aumento en la actividad de la enzima nicotinamida adenina dinucleótido

fosfato-oxidasa (NADPH-ox) dando paso a la aterosclerosis e inflamación crónica; y el tercer grupo deriva del sistema xantina-oxidasa, generando ERO implicados en la lesión isquémica por reperfusión. Por otro lado, el daño de los radicales libres a través de la oxidación de biomoléculas como lípidos, ADN y proteínas contribuye directamente al proceso de envejecimiento (Sánchez-Valle et al., 2018).

## 2.3 Fucoxantina

### 2.3.1 Fucoxantina en Macroalgas

Las algas pardas contienen pigmentos carotenoides que ofrecen diversos beneficios antioxidantes y desempeñan un papel significativo en la alimentación y la salud. Uno de ellos es la fucoxantina, responsable de la coloración marrón característica de este grupo de algas y correspondiente a más del 10% de la producción total estimada en el medio marino; con abundante respaldo bibliográfico de su capacidad antioxidante (Fernández, N. F., 2018; Ezquerra-Brauer, J. M., & Chan-Higuera, J. E., 2021; Cruz, B., Oliveira, A. I., & Pinho, C., 2023), el cual posee un mecanismo de acción que contribuye a la eliminación de los radicales libres mediante la transferencia de electrones, formación de aductos y transferencia de un átomo de hidrogeno (González-Peña et al., s.f). Este compuesto ha sido estudiado en numerosos géneros de algas pardas como *Undaria*, *Sargassum*, *Laminaria*, *Eisenia*, *Alaria*, *Cystoseira* o *Hijikia*, donde *Undaria pinnatifida* es reconocida como una especie clave para la producción de fucoxantina; en situaciones descritas en el estudio, el contenido de fucoxantina que se obtuvo oscilaba en un rango de 0.32-2.67 mg/g. (Lourenço-Lopes et al., 2020). Sin embargo, su producción debe enfrentar varios desafíos ya que su síntesis química representa un proceso complejo que no es eficiente y su rendimiento de extracción es muy variable dependiendo de la especie seleccionada y la técnica de recuperación. Debido a su estructura química especial la cual es clave para su bioactividad (Anexo 1), Peñalba-Mateos (2016) documentó acciones que tienen efecto frente a la pérdida de peso, así como beneficio en el tratamiento de las complicaciones: cáncer, hiperlipidemia, hígado graso, inflamación y estrés celular. En cuanto a la bioactividad antioxidante, se considera un efecto beneficioso sobre la salud para posibles nuevas aplicaciones en el sector alimentario (Lourenço-Lopes et al., 2021). Aunado a esto, la fucoxantina es inestable en condiciones ácidas y

posee características hidrófobas, por lo que su absorción se produce a nivel intestinal por las mismas vías que usan las grasas en la dieta, lo que sugiere que el organismo no aprovecha completamente este pigmento. Sin embargo, se han desarrollado diferentes estrategias para potenciar la eficacia de su absorción, concretamente asociándola con compuestos lipídicos para mejorar su transporte a través de las barreras celulares, aumentando su biodisponibilidad o encapsulando este carotenoide en liposomas o micelas (Fialho, A. et al., 2020).

A pesar de que, actualmente, la fucoxantina se extrae principalmente de macroalgas, su disponibilidad está sujeta a la limitación en el rendimiento de la molécula (menos de 3,7 g/kg, peso seco) y ciclos de cultivo largos (Song Wang et al., 2021a). Mientras que, las microalgas, al tener más fucoxantina, se consideran una fuente relevante de este pigmento. Sin embargo, el proceso de industrialización de las microalgas puede ser muy costoso y complejo, y no proyecta una escalabilidad rentable. Por lo tanto, se considera necesario optar por otros tipos de fuentes que contribuyan a la obtención de fucoxantina o evaluar una extracción bajo el concepto de biorrefinería desde biomasa residual de productos derivados de algas.

### **2.3.2 Fucoxantina en Microalgas**

La fucoxantina derivada de las microalgas posee un potencial sin límites en cuanto a las temporadas y localización de cultivación se refiere, su contenido en este tipo de organismos ha sido consistentemente mayor al de las macroalgas, alrededor de 2,24-59,2 mg/g. Sin embargo, solo unas pocas especies han demostrado tener el potencial para comercializar la producción de fucoxantina (Pang et al., 2024). Esto se ha evidenciado en estudios recientes, tales como el proyecto FONDEF ID22I-10214 proporcionado por el Laboratorio GIBMAR de la Universidad de Concepción, centrado en la

producción de fucoxantina desde el cultivo de la diatomea *Phaeodactylum tricornutum*. En esta investigación se describe el proceso de cultivo de la cepa UTEX 646 en medio F/2, el cual fue esterilizado a 121°C (10min) en autoclave para luego añadir una solución vitamínica y ser inoculado hasta obtener una concentración celular inicial de  $7,5 \times 10^4$  cel/mL en un matraz de 250 mL con 150 mL de caldo estéril. Las condiciones del crecimiento fueron ciclos de luz:oscuridad de 16:8 hrs, temperatura  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , luz blanca fluorescente de  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , agitación con aire esterilizado y con un periodo de crecimiento de 7 días (fase tardía crecimiento exponencial). Con respecto a la biomasa, se utilizó una termobalanza a  $110^\circ\text{C}$  por 10 min para la estimación del peso seco. Tomaron 30 mL de caldo y, a través de un filtro de 0,22  $\mu\text{m}$ , se retuvo la biomasa en un sistema de vacío para lavarla con agua desionizada, estimando el peso seco de la biomasa a través de la siguiente formula

$$Ec1: \text{Biomasa seca} \left( \frac{g}{L} \right) = \frac{\text{Peso de filtro seco con biomasa (g)} - \text{Peso de filtro seco vacío (g)}}{\text{volumen caldo filtrado (L)}}$$

En consecuencia, la estimación del contenido de fucoxantina en *P. tricornutum* al finalizar su etapa de cultivo conllevó un proceso de centrifugado (5000 RPM; 10 min; 4°C), extracción del pellet (5mL EtOH; 1% BHT), baño ultrasónico (70% potencia; 40°C; 20 min) y nuevamente centrifugado, aumentando a 8000 RPM. El extracto seco es resuspendido en 5 ml de etanol grado HPLC y se analiza cromatográficamente bajo las condiciones del HPLC YL9100, equipado con una bomba binaria (YL9111), inyector automático, detector PDA (YL9160) de rango 190~950 nm., una columna analítica C18 Kromasil, 250 x 4,6 mm × 5 µm y se utilizaron las fases móviles acetonitrilo de grado HPLC (fase móvil A) y H<sub>2</sub>O grado analítico para HPLC (fase móvil B).

Los resultados obtenidos para la cuantificación de fucoxantina en *P. tricornutum* (Anexo 2) son consistentes con lo informado por Lin et al. (2024), por lo que esta diatomea es un microorganismo que acumula bajo condiciones óptimas fucoxantina, lo que sugiere que las condiciones de cultivo y su composición inducen a una acumulación del carotenoide, sumado a la relación con la acumulación efectiva precedida de etapas de optimización de nutrientes, bajo estresores de luz o manipulación genética para la concentración de fucoxantina en *P. tricornutum*.

### 2.3.3 Avances e interés de la fucoxantina

En cuanto a los posibles efectos adversos de este compuesto, se ha comprobado que una dosis de hasta 750 mg/kg diariamente durante 4 semanas, no aparecen signos de toxicidad. Por lo tanto, se considera que la fucoxantina y sus posibles derivados no poseen efectos genotóxicos ni mutagénicos (Peñalba, O. 2016). Se han realizado diversas investigaciones relacionadas al uso complementario de la molécula de fucoxantina en tratamientos terapéuticos como mencionan Kyungsu et. al. (2020) que mediante el extracto de *Phaeodactylum tricornutum* evaluaron fucoxantina como ingrediente activo para tratar o mejorar problemas a la próstata causados por la sobreproducción de dihidrotestosterona. Por otro lado, Zakir (2018) analizó a la molécula de fucoxantina para proporcionar un efecto medicinal para reducir la grasa hepática y corporal. En su capacidad antioxidante, según Lourenço-Lopes et. al. (2021), se ha demostrado que la fucoxantina es capaz de eliminar diferentes tipos de radicales libres utilizando pruebas como DPPH, ABTS, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, entre otros. Sus ensayos fueron evaluados en estudios *in vitro* usando cultivos de células animales y humanas, relacionado con la mejora de los niveles de expresión del factor 2 vinculado al factor nuclear eritroide (Nrf2), factor de transcripción asociado con el mecanismo antioxidante, fundamental para proteger la célula frente al daño oxidativo.

Por otra parte, con relación al ámbito comercial de la molécula, fabricantes de todo el mundo han proporcionado productos que contienen fucoxantina procedente de macroalgas, incluidos, por ejemplo, Shandong Jiejing Group (China), Nektium Pharma SL (España) y Orza Oil & Fat Chemical Co., Ltd (Japón). Las autoridades correspondientes en diferentes países y en la UE consideran nutracéutica la fucoxantina, lo que potencia el desarrollo al estudio y su aplicación (Song Wang et al., 2021b). Considerando el potencial

de la fucoxantina aplicado en diferentes sectores de la industria como el farmacéutico, alimentario y cosmético, se estimó en 2022 que su mercado alcanzaría el valor de USD\$ 120 millones (Lourenço-Lopes et al., 2020).

Para enfatizar el interés industrial de la fucoxantina, se realizó una revisión de propiedad intelectual a través del repositorio del sitio web Lens mediante las palabras clave “Fucoxanthin” y “seaweeds”, en conjunto, que da conocer patentes de inversión que abordan metodologías de extracción del carotenoide desde distintas fuentes, tales como “Method for extracting fucoxanthin from seaweed by using a four-zone simulated moving bed system” (Zhou et al, 2020); también, el repositorio del Instituto Nacional de Propiedad Intelectual (INAPI), se identificó una patente vinculada a la fucoxantina; que describe la formulación alimentaria en polvo a base de un aislado de lupino, maltodextrina, aceite de canola, lecitina de maravilla, vitaminas y minerales, estevia, extracto de alga (fucoxantina) y antioxidantes. En cuanto a otras investigaciones científicas, “Ultrasound-assisted extraction (UAE) of fucoxanthin and total pigment content from macroalgal species” (Cikos et al., 2022), y “Extractability, selectivity, and comprehensiveness in SFE extraction on seaweeds” (Gondo et al., 2023) dan cuenta del interés por utilizar, mejorar u optimizar las técnicas de extracción de fucoxantina.

## 2.4 Métodos de extracción

Las extracciones con disolventes son las más utilizadas debido a que el solvente proporciona un portador físico para la transferencia de los compuestos de interés entre las diferentes fases siguiendo sus características fisicoquímicas. Teniendo en cuenta la susceptibilidad a la oxidación enzimática y no enzimática, a la presencia de oxígeno, a las altas temperaturas y a la exposición a la luz que promueven la degradación e isomerización de los carotenoides, la extracción de estos compuestos debe realizarse en el menor tiempo posible (Restrepo-Montoya, C., 2022). Actualmente, para obtener compuestos biológicos útiles, se utilizan disolventes de extracción orgánicos; metanol, acetona y acetonitrilo, entre otros. Sin embargo, los métodos actuales pueden no ser óptimos porque los disolventes orgánicos residuales generan efectos adversos tanto para la salud humana, como para el medio ambiente y pueden dañar las propiedades funcionales de la fucoxantina (Yin, S. et al., 2022). Por ejemplo, según las regulaciones tanto nacionales como de la UE, solo unos pocos solventes son permitidos para extracción de biomoléculas para consumo humano; agua (mezclada con un ácido o una base), materiales alimentarios volátiles y algunos solventes altamente volátiles como lo son el propano, butano, acetato o etilo, etanol, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O y acetona. Cabe destacar que los residuos correspondientes a estos solventes están estrictamente definidos (Choi, Y. H., & Verpoorte, R. 2019).

### **2.4.1 Maceración dinámica (ME)**

Tradicionalmente, la maceración dinámica es un método muy utilizado para extraer carotenos. Esta consiste en una extracción sólido/líquido donde se evalúan diferentes variables, como lo pueden ser la relación biomasa-solvente, el tipo y porcentaje del solvente, o el tiempo y la temperatura de la incubación. No obstante, se caracteriza por largos periodos de extracción y una baja eficiencia en comparación. En el caso de la fucoxantina, se han puesto a prueba diversas combinaciones de temperaturas y tiempo de extracción; variando de 4°C hasta 65°C, en tiempos entre 15 minutos y 96 horas. Se hizo registro de un diseño experimental de doble nivel midiendo todos los factores para las macroalgas *S. silquosum* y *S. polycystum* logrando las mejores condiciones a 30 min a 45°C con una concentración de solvente de 5 mL/g. La fucoxantina obtenida desde ambas macroalgas fue de 491.47 and 449.90 µg/g (DW) usando etanol y 706.98 and 521.34 µg/g (DW) usando metanol; respectivamente. (Lourenco-Lopes et al., 2020a;2021).

### **2.4.2 Extracción Soxhlet (SAE)**

El método Soxhlet se utiliza a escala industrial y de laboratorio al ser un método estandarizado para muestras sólidas, siendo la principal referencia con el que se comparan otros métodos de extracción (Cerquera & Ibarra, 2022). Su mecanismo consiste en introducir la muestra en un cartucho de filtro de algodón, el cual se aparta para adicionar gradualmente el solvente directamente en el cartucho de extracción. Cuando el líquido alcanza el nivel de desbordamiento, un sifón aspira el solvente del cartucho de extracción y lo descarga en el matraz de destilación. Al aplicarse calor desde la placa calefactora, el vapor de ebullición del solvente asciende hasta el tubo refrigerante donde procede la condensación y se incrementa el volumen del cartucho hasta cubrir totalmente la muestra, así, una vez alcanza el nivel del sifón, el extracto es impulsado al matraz de destilación. Este procedimiento

opera en ciclos hasta agotar la muestra de la extracción (De Castro, M. & Priego-Capote, 2010). La temperatura utilizada en el proceso es elevada, siendo su principal inconveniente, sin embargo, las sustancias son solubilizadas en solventes con un punto de ebullición bajo, como, por ejemplo: el metanol o hexano. Esta técnica ha sido utilizada en extracciones de fucoxantina desde la macroalga *Undaria pinnatifida* con las condiciones óptimas de 12h a 78°C con solvente etanol; se obtuvo un resultado de 50 µg/g de extracto (Lourenco-Lopes et al., 2020b).

### **2.4.3 Extracción asistida por microondas (MAE)**

Con el transcurso de años de investigación, han surgido nuevas técnicas de extracción que buscan ser más amigables con el medio ambiente, como es el caso de la extracción mediada por microondas donde la muestra, previamente hidratada, es sometida a la irradiación de ondas microondas causando el movimiento de las moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen al incremento de temperatura, facilitando la difusión de compuestos desde la matriz al disolvente (Reyes, C. et al., 2021). Esta técnica fue utilizada en un estudio que comprendía a las macroalgas *L. japónica*, *U. pinnatifida* y *S. fusiforme* para la extracción de fucoxantina utilizando diferentes solventes; etanol siendo el de mejor rendimiento. Las condiciones de extracción de la muestra se establecieron en una razón 10:1 (mL/g) a 50°C por 10 min; el rendimiento obtenido dio como resultado 5,13; 109,30; y 2,12 mg/100g, para cada alga, respectivamente (Lourenco-Lopes et al., 2020c). En cuanto a las microalgas, Zhang et al., (2018) optimizaron las condiciones de extracción desde la microalga *P. tricornutum* y establecieron que el mejor rendimiento ( $58.07 \pm 0.73\%$  de extracto recuperado; 20g DW), usando etanol, bajo este tratamiento es de 1 min.

#### 2.4.4 Extracción asistida por ultrasonido (UAE)

La UAE es una tecnología altamente estudiada. Es un método limpio, sencillo, rápido y verde en comparación con los métodos convencionales. Además de su alta reproducibilidad en corto tiempo, de fácil manipulación y disminución en el uso de solventes frente a otros métodos. Las ondas de ultrasonido causan la ruptura mecánica de la pared celular liberando los componentes bioactivos, a su vez el calentamiento local del solvente aumenta la difusión del extracto, mejorando así la transferencia de masa a través de la interfase sólido-líquido. Los efectos mecánicos de la sonicación inducen a una mayor disolución del solvente en las paredes y membranas celulares, facilitando la liberación del contenido de las células y mejorando la transferencia de masa (Rojas, T. et al., 2019). No obstante, la eficiencia del método puede verse afectada por diversas variables, como las propiedades físicas del solvente, temperatura, amplitud de onda, frecuencia, potencia del ultrasonido, presión hidrostática, tensión superficial, potencia de irradiación, pH del disolvente y relación disolvente – sólido (Benavides-Guerrero et al., 2020). Las mejores condiciones para este tipo de extracción se definieron en el uso de etanol (80%), 50°C y 30 min para la obtención de fucoxantina desde macroalga *Padina tetrastromatica* (Lourenco-Lopes et al., 2020d). En cuanto a las microalgas, Tang et al. optimizó las condiciones para *P. tricornutum* a una frecuencia de 20 kHz en ciclos intermitentes de 30 s/30 s y una potencia ultrasónica de 285 W, la eficacia en la disrupción de la célula se logró pasados 20 minutos. Guler et al. replicó esta técnica utilizando diclorometano (DCM) y tetrahidrofurano (THF) como solventes y obtuvo un rendimiento de 7,35 mg/L de fucoxantina (Pang Y. et al., 2024).

#### 2.4.5 Extracción por fluidos supercríticos (SFE)

En las últimas décadas, las tecnologías de extracción basadas en variaciones de presión y temperatura han facilitado la obtención de compuestos naturales de alta pureza, como la fucoxantina. Una de las principales ventajas de utilizar fluidos supercríticos como agentes extractores es su densidad, comparable a la de los líquidos, lo que les da disolventes similares; pero, al tener menor viscosidad, permiten coeficientes de difusión más altos para los solutos que los disolventes líquidos convencionales. El dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) es el fluido supercrítico más comúnmente utilizado en aplicaciones de extracción SFE debido a su estado gaseoso a presión atmosférica y a otras ventajas prácticas que mejoran su eficiencia. No obstante, se apola como única desventaja frente a otros fluidos supercríticos como el amoníaco o el etanol, aunque presentan inconvenientes como ser altamente reactivos o su elevada temperatura crítica, respectivamente, lo que complica la extracción de analitos de elevada polaridad. Ante este obstáculo, la adición de pequeñas cantidades de un solvente orgánico polar (cosolvente) juega un papel fundamental al modificar los parámetros críticos y sumar polaridad al fluido supercrítico, obteniendo mayores características disolutivas. También, se presenta un favorecimiento en la desorción de los analitos absorbidos en los centros activos de la matriz. Teniendo en cuenta el uso potencial de extractos en la industria alimentaria, se prefiere el uso de etanol debido a sus efectos tóxicos inferiores (Toro, M., 2012; Cháfer et al., 2005). La técnica de SFE con  $\text{CO}_2$  como solvente se ha consolidado como un método eficaz para extraer metabolitos de macroalgas de alto valor, logrando en el caso de la fucoxantina tasas de recuperación de hasta un 80% del contenido total (Song Wang et al., 2021). Asimismo, al utilizar etanol como cosolvente se han obtenido rendimientos hasta 16 veces mayor. (SFE  $\text{CO}_2$ , 70°C, 400 bar, 3h. 60.12  $\mu\text{g/g}$  DW; SFE  $\text{CO}_2+\text{EtOH}$ , 60°C, 400 bar, 3h. 994.53  $\mu\text{g}$  de fucoxantina/g DW). Los sistemas que utilizan  $\text{CO}_2$  puede ser una opción

eficiente y ecológica para la producción de fucoxantina a una escala industrial; para microalgas, Sánchez-Camargo et al. (2017) utilizaron CO<sub>2</sub>/limoneno como solvente (50-50 v/v) para obtener un extracto de fucoxantina de 1.67 mg/g con un rango de recuperación del 92.7% con el doble de efectividad que una extracción a presión, pero, a su vez, el uso de co-solventes en compuestos altamente polares incrementa el costo de producción.

<b>Productos Nutracéuticos</b>	<b>Forma de obtención y/o sustancia activa</b>	<b>Acción terapéutica</b>
VITAMINA E	Tocoferoles y los tocotrienoles, principalmente obtenidos del aceite (girasol, maíz) y frutos secos.	Inhibición de la peroxidación lipídica causada por los radicales libres, prevención de varios tipos de cáncer (de pulmón, de páncreas y de cuello de la matriz)
COENZIMA Q10 O UBIQUINONA	Las carnes, los pescados y los frutos secos.	Inhibe la peroxidación lipídica en las membranas celulares y es importante su actividad impidiendo la oxidación de las LDL.
ANTIOXIDANTES FENÓLICOS FLAVONOIDES	Uva, fresa, ajo, manzana, espinaca, té, granada, etc.	Prevención de cáncer, colesterolemia, embolias y aterosclerosis, ataques cardíacos, inflamaciones y envejecimiento celular
ANTIOXIDANTES LUTEÍNA	Espinaca, maíz amarillo, cereales de desayuno, hojas de col, etc.	Prevención de la degradación macular, cataratas y retrasa los síntomas de la retinitis pigmentosa
ANTIOXIDANTE SELENIO	Levadura Se-Metionina, selenito de sodio y compuestos enriquecidos con Se-Metionina	Prevención de cáncer de próstata, colon y pulmón, enfermedades cardiovasculares. Refuerza el sistema inmunológico y retrasa el avance de enfermedades como el sida
RESVERATROL	Piel de las uvas, los cacahuetes y en el vino tinto	Tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, y se ha estudiado por sus posibles beneficios para la salud cardiovascular y la longevidad.
CURCUMINA	Cúrcuma	Tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, beneficios hacia la salud cerebral y previene enfermedades crónicas.
VITAMINA C	Ácido ascórbico desde frutas cítricas (naranjas, limones, fresas), verduras (pimientos, espinacas, brócoli)	Prevención de enfermedades diarreicas, cáncer de colon y colesterolemia. Salud intestinal
ANTIOXIDANTES CAROTENOIDES	Algas pardas ( <i>U. pinnatifida</i> , <i>Lessonia</i> , <i>Macrocystis</i> ), microalgas ( <i>Phaeodactylum tricornutum</i> ), B-caroteno, cantaxantina, astaxantina y fucoxantina.	Previene el daño del ADN, acción contra las células del neuroblastoma humano, eliminación de carcinogénicos, inhibición de pre-carcinogénicos.

**Tabla 1.** Beneficios antioxidantes terapéuticos de productos nutracéuticos. Tomado de Leonard, H. P. (2006) con modificaciones.

### 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

#### 3.1 Pregunta de investigación

¿Los descartes de la macroalga *Lessonia spicata* pertenecientes a la industria de los hidrocoloides son una fuente viable y valorizable para la obtención de la molécula de fucoxantina como alternativa a la microalga *Phaeodactylum tricurnutum*?

#### 3.2 Hipótesis

La fucoxantina obtenida desde la macroalga *Lessonia spicata* derivada de los descartes de la industria de los hidrocoloides es una fuente alternativa valorizable para su potencial uso como antioxidante en la industria nutracéutica

#### 3.3 Objetivo general:

Valorizar en base a fucoxantina la biomasa residual de la macroalga parda *Lessonia spicata* descartadas de la industria de los hidrocoloides como fuente alternativa a la microalga *Phaeodactylum tricurnutum* para su potencial uso como antioxidante en la industria nutracéutica

#### 3.4 Objetivos específicos:

- a) Evaluar técnicas de secado de biomasa para la extracción de fucoxantina desde la macroalga parda *Lessonia spicata*.
- b) Simular biomasa residual industrial de *L. spicata* a partir del proceso de extracción de alginato de sodio desde biomasa seca
- c) Seleccionar el proceso de extracción de fucoxantina a partir de biomasa residual simulada de la macroalga *Lessonia spicata* en comparación con la industria de los hidrocoloides

- d) Determinar la capacidad antioxidante del extracto a partir del extracto residual simulado obtenida desde el método de extracción de fucoxantina seleccionado en comparación con la fucoxantina determinada en *P. tricornutum*

#### 4. METODOLOGÍA

Objetivo 1: Evaluar técnicas de secado de biomasa para la extracción de fucoxantina desde la macroalga parda *Lessonia spicata*.

Se analizaron detalladamente distintos métodos de secado, considerando su impacto en la concentración y estabilidad de las macroalgas, proporcionando así una base sólida para la optimización del proceso de extracción.

##### Actividad 4.1.1 Recolección y procesamiento de la macroalga *Lessonia spicata*

Se dispuso de un muestreo aleatorio estratificado en la costa del sector caleta Chome, en la comuna de Hualpén, Región del Biobío. Se extrajeron aproximadamente 10 kg de *Lessonia spicata* desde el mismo sustrato. Se almacenaron en recipientes tipo hielera y en bolsas de polietileno, posteriormente, fueron despojadas de cualquier residuo asociado y enjugando con agua de mar limpia. Las muestras fueron resguardadas en los mismos recipientes con agua de mar limpia en una cámara de frío a 5°C bajo oscuridad para mantener la biomasa fresca por un aproximado de 24h hasta el inicio del experimento.

## Actividad 4.1.2 Evaluación de métodos de secado

### 4.1.2.1 Secado en estufa

El secado se realizó en una estufa convencional Lab-Tec ZFD-A5430A, pesando 300g de alga fresca para posteriormente trocearla lo más uniforme posible, con la finalidad de que el calor del secado penetre toda la matriz del alga. El alga troceada se distribuyó en bandejas plásticas (PP), con una base de papel aluminio, hasta completar su superficie. Este proceso se repitió por triplicado para cada uno de los tratamientos (40°C, 50°C y 60°C). Se ajustaron los parámetros del equipo y se introdujeron las bandejas. El peso del alga se evaluó rutinariamente cada 12 horas y se pesaba en una báscula analítica hasta obtener un peso constante. Al finalizar un procedimiento se retiraba la biomasa seca y se resguardaba en bolsas herméticas en un lugar seco y bajo oscuridad hasta su posterior pulverización.

### 4.1.2.2 Secado por deshidratación

El secado por deshidratación se realizó en un equipo de deshidratación IRD5 MioBio, pesando 300g de alga fresca para posteriormente trocearla lo más uniforme posible, con la finalidad de que el calor del secado penetre toda la matriz del alga. La biomasa troceada se distribuyó en bandejas de acero inoxidable hasta completar su superficie y fueron introducidas al equipo. Este proceso se realizó por triplicado para cada uno de los tratamientos (40°C, 50°C y 60°C). Los tratamientos se realizaron a una velocidad de aire constante según la especificación del propio equipo. El peso del alga se evaluó rutinariamente cada 12 horas y se pesaba en una báscula analítica hasta obtener un peso constante. Al finalizar un procedimiento se retiraba la biomasa seca y se resguardaba en bolsas herméticas en un lugar seco y bajo oscuridad hasta su posterior pulverización.

### 4.1.2.3 Secado al vacío

El secado al vacío se realizó en un equipo de vacío BOV-SOV Biobase, pesando 300g de alga fresca para posteriormente trocearla lo más uniforme posible, con la finalidad de que el calor del secado penetre toda la matriz del alga. La biomasa se distribuyó en bandejas de acero inoxidable, encajadas por altura dentro del equipo, hasta abarcar toda la superficie. Este proceso se realizó por triplicado para todos los tratamientos evaluados (40°C, 50°C y 60°C). El nivel de vacío en el equipo oscilaba entre 0,08~0,06 MPa. La condensación del equipo fue controlada cada día al finalizar la jornada y se pesó rutinariamente la biomasa hasta obtener un peso constante. Al finalizar un procedimiento se retiraba la biomasa seca y se resguardaba en bolsas herméticas en un lugar seco y bajo oscuridad hasta su posterior pulverización.

#### 4.1.2.4 Secado de Liofilización

El secado por liofilización en un equipo liofilizador OPERON (-70°C) pesando 300g de alga fresca para posteriormente trocearla lo más uniforme posible, con la finalidad de que los procesos de sublimación y congelación actúen en toda la matriz del alga. La biomasa se distribuyó en bandejas de acero inoxidable, encajadas por altura dentro del equipo, hasta abarcar toda la superficie. Este proceso se realizó por triplicado. Se configuró el equipo para que se mantuviese trabajando a una temperatura de -67°C con una presión de 0,027 KPa (Elsa Uribe et al, 2018). La biomasa fue pesada rutinariamente cada día hasta obtener un peso constante. Al finalizar el procedimiento, se retiró la biomasa seca y se resguardó en una bolsa hermética; se mantuvo en un lugar seco y bajo oscuridad hasta su posterior pulverización.

#### Actividad 4.1.3 Pulverización de algas

Finalmente, posterior al secado, las biomásas de *L. spicata* fueron sometidas a un proceso de pulverizado mediante el equipo FRITSCH Knife Mill PULVERISETTE 11 hasta obtener un polvo fino. Luego, cada muestra por triplicado se resguardó en bolsas herméticas utilizando una selladora al vacío automática Oster FoodSaver V2240 y fueron almacenadas en el congelador a una temperatura de -20°C, hasta su aplicación experimental.

Actividad 4.1.4 Determinación del contenido de fucoxantina en biomasa seca por HPLC.

#### 4.1.4.1 Preparación de extractos

Se realizó un concentrado de las muestras en tubos eppendorf de 1,5mL, para un total de 30 muestras. Se utilizó una báscula analítica de laboratorio y se pesó aproximadamente 100 mg de cada tratamiento de biomasa seca por triplicado, se rotularon según el tipo de secado y la temperatura a la que este fue empleado. A cada uno se le agregó 500 uL de etanol de grado analítico para, posteriormente, ser sometidas a rotación por vórtex durante un minuto por cada una; abarcando la mayor cantidad de muestras para acelerar el proceso. Seguidamente, las muestras se colocaron en un soporte de goma y se depositaron en un baño de ultrasonido (UC-30A Biobase) que se dejó accionando a un 70% de rendimiento, 40°C durante 10 minutos, todo este proceso se realizó por dos ciclos. Tras el proceso, las muestras se centrifugaron a 14000 RPM durante 15 minutos y se traspasó el sobrenadante a viales ámbar de 2mL con una jeringa de 1mL ensamblada a un filtro de 0.22µm. Finalmente, se utilizó un difusor de nitrógeno 4.8 para concentrar cada muestra y, por último, resuspender con 400 uL de metanol de grado analítico para HPLC.

#### 4.1.4.2 Determinación de fucoxantina

La composición de las concentraciones fue determinada con el equipo HPLC YL9100 según el método descrito por Laboratorio GIBMAR (2025) con modificaciones. Para ello, se utilizó una columna analítica C18 Kromasil, 250 x 4,6 mm x 5 µm y se utilizaron las fases móviles acetonitrilo de grado HPLC (fase móvil A) y H<sub>2</sub>O grado analítico para HPLC (fase móvil B). Se colocaron las muestras en la bandeja del inyector automático, intercalando un blanco cada 5 muestras y se ingresaron al software del equipo. El flujo de la fase móvil fue gradualmente controlado, se inició con 0.5 ml/min y este iba incrementando, en periodos de 2 minutos para mantener un control en el sistema, hasta alcanzar el

flujo deseado de 1 ml/min. El proceso por muestra comprendía un estimado de 30 minutos, con un estimado de 15 horas en total. Con los resultados obtenidos, se cuantificó mediante la curva de calibración según el estándar para extrapolar los datos de las muestras, observando el espectro cromatográfico según su tiempo de retención y por comparación de absorbancia a una longitud 454 nm para detectar la presencia de fucoxantina.

*Tabla 2. Gradiente de elución empleado en HPLC; Acetonitrilo (A) y H2O grado HPLC (B)*

Tiempo [min]	A [%]	B [%]	Flujo [mL/min]
Inicial	80,0	20,0	1,00
20,00	80,0	20,0	1,00
20,10	100,0	0,0	1,00
25,00	100,0	0,0	1,00
25,10	80,0	20,0	1,00
30,00	80,0	20,0	1,00

#### 4.1.4.3 Elaboración de curva de calibración de fucoxantina para

##### C18

La cuantificación de FX se realizó por medio de una curva de calibración en cromatografía líquida de alta presión (HPLC), preparada en etanol, por triplicado, el mismo día del análisis a partir de una solución madre de 200mg/mL de estándar (cayman *Item*:13068) en 10 mL de etanol, tomando una alícuota adecuada para preparar los siguientes puntos de la curva de calibrado: 5; 25; 50; 75; y 100 µg/mL, agregando BHT al 1% como antioxidante. Se hizo un cálculo estimado a partir de una regla de tres para el volumen necesario de cada concentración con precisión volumétrica. Posteriormente, las concentraciones fueron introducidas al inyector automático para análisis HPLC con la misma columna analítica C18 Kromasil, 250 x 4,6 mm. La inyección para cada extracto se hizo por triplicado en el equipo HPLC YL9100, equipado con una bomba binaria (YL9111), inyector automático y detector PDA (YL9160) de rango 190~950 nm.

#### Actividad 4.1.5 Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. El análisis de datos se ejecutó en el software “*Statistica 4.1*” y la posterior expresión de los resultados utilizando el programa GraphPrism4. Para evaluar la normalidad y homogeneidad de los datos se utilizaron diferentes métodos de transformaciones de datos y fueron comparados según la prueba de Shapiro-Wilk y consagrar que distribución de datos se acercaba más a la normalidad según el valor de  $P > 0.05$ . Por otra parte, se aplicó la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene a partir de la mejor transformación de datos. Se realizó un ANOVA unidireccional para determinar de manera general la diferencia significativa entre los datos con un nivel de significancia del 5% y, una vez determinada la hipótesis alternativa, se realizó una prueba post-hoc de Tukey para evidenciar las diferencias significativas relacionando cada una de las muestras entre sí y dar pie a la selección del mejor método de secado.

Objetivo 2: Simular biomasa residual industrial de *L. spicata* a partir del proceso de extracción de alginato de sodio desde biomasa seca

Previamente a la evaluación de los métodos de extracción, los hidrocoloides de *L. spicata* fueron extraídos según el método descrito por Gonçalves Fernández, C. (2019) con modificaciones, consiguiendo de este modo una biomasa residual simulada para la extracción de fucoxantina.

#### Actividad 4.2.1 Extracción de alginato de sodio mediante maceración dinámica

El método convencional a nivel laboratorio se realizó con el fin de generar una precipitación del alginato en la biomasa seca de *Lessonia spicata*. Se dispuso 60g PS (peso seco) distribuidos en tres matraces de 1L, la cual fue sometida a una relación biomasa-solvente de 1:40. De manera que se formó una solución con agua destilada que fue incubada en rotación bajo los parámetros de temperatura, RPM y tiempo (30°, 150 RPM y 24h) para ablandar los tejidos. Finalizado el proceso, se traspasó el sobrenadante a un vaso precipitado y se observó una leve precipitación del gel; se formó una solución hidroalcohólica para el gel añadiendo tres veces su volumen de etanol al 72% y se dejó en reposo durante 24h en refrigeración a una temperatura de 4°C. Por otra parte, la biomasa sin alginato fue resguardada y secada a 50°C hasta obtener un peso constante. Una vez precipitado el etanol del alginato sólido, se procedió a centrifugar la muestra para recuperar restos de alginato precipitados y descartar el sobrenadante. El alginato sólido recuperado fue pesado en balanza analítica y se llevó a un horno convencional a 50°C para finalmente obtener el rendimiento de alginato desde la biomasa secada en el método de secado seleccionado y el residuo simulado.

Objetivo 3. Seleccionar el proceso de extracción de fucoxantina desde la macroalga *Lessonia spicata*

La extracción se realizó para la biomasa residual simulada y para la biomasa seca directamente desde el tratamiento de secado, antes a la extracción de alginato.

#### Actividad 4.3.1 Evaluación de métodos de extracción

##### 4.3.1.1 Método de Maceración Dinámica

Se realizó una extracción sólido-líquido mediante un proceso batch; con una relación biomasa-solvente de 1:40. Se distribuyeron 30g de biomasa seca en polvo de la macroalga *Lessonia spicata* en 6 matraces de 250mL (15g de Biomasa seca sin alginato: Grupo B; dividido en 3 matraces y 15g de Biomasa seca con alginato: Grupo A; dividido en 3 matraces), a los cuales se les añadieron, a cada uno, 200 mL de etanol de grado técnico al 72%. Luego, se acoplaron en un shaker de incubación (JSR – JSSI–100°C) y se realizó la configuración de parámetros; a 150 rpm con temperatura de 30°C durante 24hrs. Una vez finalizada la maceración, retiró el sobrenadante y se llevó a centrifugación (8000 RPM, 10 min) para separar cualquier sólido suspendido. Se preparó el equipo espectrofotómetro de doble haz (HALO DB – 20 DYNAMICA) para determinar la presencia de fucoxantina en las muestras; el análisis se realizó a una absorbancia de 442 nm. Al obtener las longitudes de onda, se concentraron las muestras utilizando un equipo multitrotavapor (P-6 230V, Buchi), ocupando la capacidad de 6 frascos para traspasar el contenido de las muestras.

Previamente, se ajustaron los parámetros de trabajo para el equipo MultiVap. El volumen de agua fue medido para el funcionamiento del calentador, utilizando agua desionizada hasta cubrir la mitad de la capacidad volumétrica del recipiente para cada botella; al ensamblar el soporte con las muestras, el líquido debe quedar por sobre el volumen de la muestra para una ebullición constante y pareja. Por otra parte, para

recuperar el solvente, en este caso etanol, se utilizaron los siguientes parámetros: 102 mbar, 50°C. Una vez recuperado el solvente y obtener un concentrado seco, se resuspendió la muestra en 5mL de etanol de grado analítico para HPLC, se traspasaron a viales ámbar mediante filtros de 0,22 µm y fueron guardados en oscuridad a -20°C hasta su aplicación analítica.

#### 4.3.1.2 Método de extracción por soxhlet

La fucoxantina se extrajo según el método descrito por Ochoa Lizarzaburo (2024) con modificaciones, utilizando como solvente etanol 72° de grado técnico y realizando cada experimento por triplicado. Ocupando un equipo soxhlet convencional, se vertió el solvente en el tubo extractor hasta el nivel marcado por el paso de ascenso de vapores siendo redirigido hasta el matraz para solvente con capacidad de 250mL. Se dispuso 5g de biomasa para cada experimento en el cartucho de celulosa y se configuró la placa de calentamiento para que funcionara a 60°C. La extracción se realizó hasta el agotamiento de la muestra, lo cual marcó un tiempo aproximado de 2.5h. Para manipular el solvente extraído, se dejó enfriar 10 minutos a temperatura ambiente y se resguardó el balón en oscuridad a 5°C durante 48h hasta su siguiente aplicación experimental.

Para el concentrado de las muestras se utilizó un equipo multivapor (P-6 230V, Buchi), donde se ocuparon tres botellas para traspasar el contenido de los balones soxhlet. Una vez recuperado el solvente y obtener un concentrado seco, se resuspendió la muestra en 5mL de etanol de grado analítico para HPLC, se traspasaron a viales ámbar mediante filtros de 0,22 µm y fueron guardados en oscuridad a -20°C hasta su aplicación analítica.

#### 4.3.1.3 Método de extracción por fluido supercrítico CO<sub>2</sub>

El sistema de extracción de fluido supercrítico (SFE) con dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) fue utilizado según lo reportado por Yin et. al. (2022), con modificaciones. Se emplearon 5 g de biomasa, por triplicado, en un vaso de reacción para 20 mL, para evitar pérdidas y filtraciones de biomasa, cada extremo del tubo fue rellenado con celulosa para evitar el arrastre de la muestra. Por un lado, la metodología de extracción que fue utilizada se tomó según lo descrito por Lourenço-Lopes et. al. (2021) donde se especificó que para la extracción de carotenos con SFE, los parámetros optimizados deben ser una temperatura de 70°C a una presión de 400 bar; se utilizó solamente CO<sub>2</sub> como solvente. En el panel digital se ajustaron los parámetros anteriormente mencionados, el equipo se tomó alrededor de 15 minutos en alcanzar la temperatura deseada y una vez alcanzada, se abrió la llave de paso de CO<sub>2</sub> y se estableció el flujo a 5mL/min. Conforme se realizó la extracción, el tubo de recuperación se calentó con una secadora manual para evitar la acumulación de cristales de hielo; la extracción culminó con una guía visual que determinó que no se recuperaba más contenido de la muestra. Por otra parte, para el segundo experimento se realizó una extracción utilizando etanol como co-solvente en un 11%, se utilizó un nivel de presión de 400 bar y la temperatura se redujo a 60°C, condiciones ideales para obtener el máximo valor de carotenos en extracciones SFE con co-solvente (Lourenço-Lopes et al., 2021), el procedimiento realizado luego de ajustar los parámetros fue el mismo en ambos experimentos. Finalmente, las muestras fueron resuspendidas en 5 mL de etanol de grado analítico para HPLC y fueron almacenadas en oscuridad a una temperatura de -20°C, hasta su análisis.

Objetivo 4. Determinar la capacidad antioxidante de fucoxantina obtenida desde el método de extracción de fucoxantina seleccionado

Se determinó la capacidad antioxidante (CAOX) de la extracción anteriormente aplicada, de la cual se obtuvieron valores significativos de fucoxantina. Los extractos se evaluaron bajo métodos de determinación CAOX aplicables comúnmente en laboratorio para evaluación de alimentos, suplementos dietéticos y productos farmacéuticos descritos por Kawee-ai et. al. (2013).

#### 4.4.1 Ensayo DPPH

La capacidad antioxidante de las muestras se determinó empleando radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) por el método de Becker et. al. (2019), con algunas modificaciones. Este radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante. Pudiendo seguirse la reacción midiendo la disminución de la absorbancia en el tiempo a 517nm. El antioxidante reacciona con el DPPH produciendo la decoloración de este pasando de un color violeta oscuro a un color amarillo claro.

La solución de DPPH se preparó diariamente en metanol y fue guardada en oscuridad a temperatura ambiente hasta su uso. El ensayo se realizó se realizó en microplacas de 96 pocillos, se añadió en cada pocillo 10µL de blanco, muestra o de soluciones de patrones de Trolox (0-200µM en etanol), más 90 µL de metanol y 100µL de DPPH. Se dejó incubar a 30°C por 30 min y se leyó la absorbancia por triplicado a 517nm.

Se midió el porcentaje de captación del radical libre DPPH utilizando la siguiente ecuación:

$$Ec. 1. \text{ Porcentaje de captación del radical libre DPPH (\%)} = [(Ab - Am/Ab) * 100$$

$A_b$  = Absorbancia del blanco

$A_m$  = Absorbancia de la muestra

**Tabla 3. Elaboración de curva de calibrado de Trolox para DPPH**

<b>Concentración</b>	<b>V (estándar 2000 <math>\mu</math>M) [uL]</b>	<b>V (metanol) [uL]</b>
0	0	1000
25	12,5	987,5
50	25	975
100	50	950
150	75	925
200	100	900
250	125	875

#### 4.4.2 Ensayo ABTS

La capacidad antioxidante de las muestras se determinó mediante el ensayo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) también conocido como Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC), en base al método desarrollado por Regnier et. al. (2015), con algunas modificaciones. Este método corresponde a un método de transferencia de electrones. Se basa en la inhibición por parte de los antioxidantes de la absorbancia del catión radical de ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), un cromóforo azul-verde y estable que tiene un espectro de absorción característico a 734nm. El radical catiónico coloreado ABTS se forma previamente mediante la producción directa del cromóforo ABTS azul verdoso a través de la reacción entre ABTS y persulfato de potasio. La adición de antioxidantes a este radical obtenido previamente sigue un mecanismo de transferencia de electrones, que se visualiza como una decoloración correspondiente a cuando el radical ABTS se reduce por el antioxidante y por tanto una disminución en su absorción. De esta forma, el grado de decoloración permite evaluar el porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS, que se determina en función de la concentración de antioxidante y el tiempo de reacción. Los resultados se expresan como equivalentes de Trolox o TEAC. El radical ABTS se formó a partir de mezclar

38,42 mg de ABTS con 6,9 mg de persulfato de potasio en 10 mL de agua. La mezcla se dejó en oscuridad por 16 horas para que se formara el radical. Pasado este tiempo se lee su absorbancia a 734nm y esta debe ser de 0,7. El ensayo se realizó se realizó en microplacas de 96 pocillos, se añadió en cada pocillo 190µL de ABTS y se midió su absorbancia 734nm, se dejó incubar a 30°C por 5 min y se añadieron 10µL de blanco, muestra o de soluciones de Trolox (0-200µM en etanol) para un volumen final de 200µL. Se incubó a 30°C por 20 min y se leyó la absorbancia a 734nm por triplicado. Los datos fueron interpretados en base a la curva de estándar de Trolox y los resultados son expresados como µM de Trolox equivalentes (TE).

**Tabla 4. Elaboración de curva de calibrado de Trolox para ABTS**

<b>Concentración</b>	<b>V (estándar 2000 µM) [uL]</b>	<b>V (etanol) [uL]</b>
0	0	1000
25	12,5	987,5
50	25	975
100	50	950
150	75	925
200	100	900

#### 4.4.3 Ensayo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power, por sus siglas en inglés)

La capacidad antioxidante de las muestras se determinó mediante el ensayo FRAP, en base al método desarrollado por Al-Tarifi et. al. (2020), con algunas modificaciones. Este método se basa en el efecto de los antioxidantes en la reacción de transferencia de un solo electrón (SET). Se basa en la reducción del complejo de hierro férrico y cloruro de 2,3,5-trifenil-1,3,4-triazo-2-azoniaciclopenta-1,4-dieno (TPTZ) a la forma ferrosa coloreada (de un intenso color azul) a pH bajo (pH=3.6). Esta reducción se controla midiendo el cambio en la absorbancia a 593 nm y a una temperatura de 37°C.

Brevemente, el ensayo se realizó en microplacas de 96 pocillos donde se mezcló la siguiente mezcla de reacción para un volumen final de 200 µL: 10 µL de blanco, muestra o de soluciones de Trolox, y 190 µL de solución FRAP. La solución FRAP se preparó diariamente a 37 oC a partir de mezclar los siguientes reactivos:

- 2,5 mL de la solución de TPTZ (10mM en 40mM de HCl a 50°C) preparada diariamente
- 2,5 mL de FeCl<sub>3</sub> (20mM en agua) preparada diariamente
- 25 mL de buffer acetato (300 mM pH 3.6)

La microplaca fue inmediatamente colocada en el lector de microplaca SYNERGY HTX Biotek, incubada a 37°C por 30 min y leer la absorbancia a 593nm por triplicado. Los datos fueron interpretados en base a la curva de estándar de Trolox con concentraciones entre 25-800 µM. Los resultados son expresados como µM de Trolox equivalentes (TE).

**Tabla 5. Elaboración de curva de calibrado de Trolox para FRAP**

<b>Concentración</b>	<b>V (estándar 1000 <math>\mu</math>M) [uL]</b>	<b>V (Buffer acetato) [uL]</b>
0	0	1000
25	25	975
200	200	800
400	400	600
600	600	400
800	800	200

## 5. Resultados

Objetivo específico 1: Evaluar técnicas de secado de biomasa para la obtención de fucoxantina desde la macroalga parda *Lessonia spicata*.

### 5.1 Rendimiento de secados y determinación del contenido de fucoxantina en biomasa seca por HPLC.

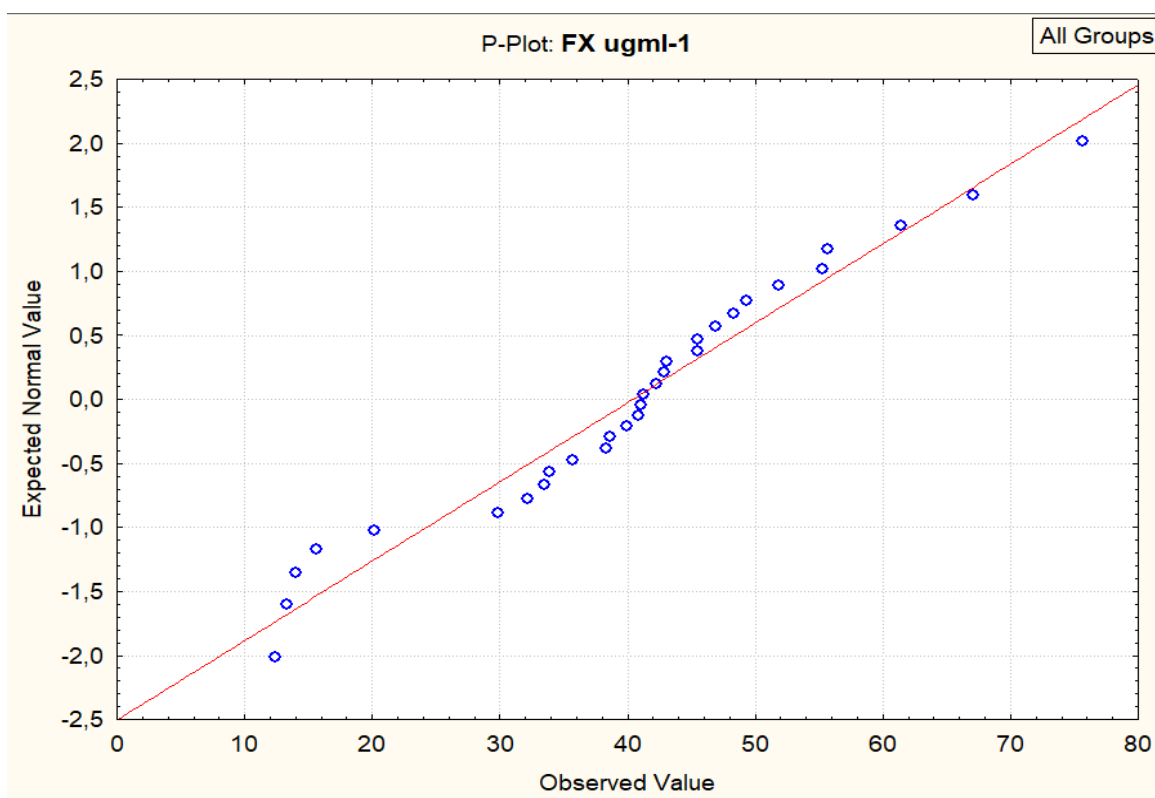
Se hizo registro de todos los parámetros que conllevaban los métodos de secado y se elaboró una tabla comparativa. Los parámetros muestran que cada tratamiento obtuvo un rango óptimo de peso en agua reducido respecto al peso inicial (entre 80-90%); el criterio para la selección del tratamiento óptimo para *Lessonia spicata* se estableció en base a la cantidad de fucoxantina ( $\mu\text{g/g}$ ) obtenida de cada muestra, el tiempo de secado (Tabla 6) y el costo energético de la operación (Anexo 3). Las concentraciones fueron analizadas detalladamente unas entre otras, mediante el análisis de varianza de una vía (*one way – ANOVA*; Tabla 7) presenciando diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el método de secado por deshidratador sometido a  $40^{\circ}\text{C}$  frente a sus variantes de temperatura y los otros métodos convencionales; en horno de gran capacidad, a diferentes temperaturas y las concentraciones obtenidas mediante el secado al vacío, a diferentes temperaturas. El método de liofilización no presenta una diferencia significativa frente al método que preservó mayor cantidad de fucoxantina ( $p > 0,05$ ), sin embargo, obtuvo un rendimiento más lento con relación a la concentración obtenida.

Tabla 6. Tratamientos de Secado Aplicados en la Macroalga *Lessonia spicata* y su Rendimiento en Contenido de Fucoxantina

Tratamientos	Peso húmedo (g)						Peso húmedo (total) (g)	Temperatura (°C)	Tiempo de secado (h)	Peso seco (g)			Peso seco (total) (g)	Rendimiento Humedad (%)	FX (ug/g BS)
	R1	R2	R3	X	SD	CV				R1	R2	R3			
Horno Convencional	100,0	100,5	101,0	100,5	0,5	0,5	301,5	40	19	20,6	17,7	25,4	63,7	21,1	171,214
	100,5	101,0	101,0	100,8	0,3	0,3	302,5	50	15	18,9	21,6	16,2	56,7	18,7	147,317
	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	300	60	12	15,9	16,3	16,7	48,9	16,3	166,955
Deshidratador	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	300	<u>40</u>	<u>24</u>	<u>14,6</u>	<u>20,2</u>	<u>17,4</u>	<u>52,2</u>	<u>17,4</u>	272,215
	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	300	50	22	15,3	18,1	16,7	50,1	16,7	192,804
	100,0	100,5	101,0	100,5	0,5	0,5	301,5	60	19	15,9	16,7	16,3	48,9	16,2	130,265
Estufa al Vacío	100,5	101,0	101,0	100,8	0,3	0,3	302,5	40	72	25,4	20,6	17,7	63,7	21,1	171,771
	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	300	50	67	21	16,6	19,9	57,5	19,2	92,899
	100,0	100,0	100,0	100,0	0,0	0,0	300	60	60	14,2	13	19,2	46,4	15,5	53,095
Liofilización	102,0	102,0	103,0	102,3	0,6	0,6	307	-67	45	23,8	21,3	18,7	63,8	20,8	216,973

## 5.2 Análisis estadístico

Los datos obtenidos para determinar el método de secado más eficiente fueron ingresados al software estadístico “Statistica 4.1” y se procedió a ejecutar un análisis de varianzas de una vía (*one way – ANOVA*). Como primera instancia, se evaluó la determinación de normalidad (p-plot) y homogeneidad de las varianzas bajo la prueba de Levene, sometiendo la variable de concentración de fucoxantina (FX ugg-1) a una serie de transformaciones de datos. Tras las comparaciones entre datos normativos, se observó que el valor de normalidad de las muestras se presentaba en las concentraciones de fucoxantina netas, es decir, sin someter los datos a una transformación. (Figura 2).



**Figura 2.** Análisis de normalidad para la concentración de fucoxantina; Variable FX ugml-1 (Datos sin transformación estadística). Software Statistica 4.1

Posteriormente, se efectuó el análisis de varianza de una vía (*one way – ANOVA*) (Tabla 7). El análisis sugiere que existen diferencias significativas en la preservación de fucoxantina entre cada tratamiento de secado y temperatura aplicado a la biomasa seca de *Lessonia spicata*.

Tabla 7. ANOVA: Concentraciones de FX [ $\mu\text{g/g BS}$ ] en función de Tratamientos de secado y temperatura

Efecto	Grado de libertad	FX $\mu\text{gBS-1}$ SS	FX $\mu\text{gBS-1}$ MS	FX $\mu\text{gBS-1}$ F	FX $\mu\text{gBS-1}$ p
TTO*Temp	4	1031,230	257,8076	14,33328	0.000011
Error	20	359,733	17,9866		
Total	29	6768,311			

Finalmente, se realizó la prueba post-hoc de Tukey (Tabla 8), la cual permitió identificar las diferencias significativas en las concentraciones de fucoxantina entre los distintos tratamientos evaluados (tipo de secado y temperatura).

Los resultados expresados por el análisis de varianzas de una vía (*one way* – ANOVA) y el pos-hoc (*Tukey test HSD*) determinaron que dentro de los tratamientos (métodos de secado y temperaturas) aplicados a la biomasa seca de la macroalga parda *Lessonia spicata*, el más eficaz para la recuperación de fucoxantina es el método por deshidratación a 40°C (272,2152  $\mu\text{gFX/gBS} \pm 28,64$ ).

Tabla 8. Test de Tukey aplicado en diferentes tratamientos de secado para la macroalga parda *Lessonia spicata*

TTO	Temperatura	FX uggBS <sup>-1</sup> Media	1	2	3	4	5	6
EV	60	53,095	****					
EV	50	92,899	****	****				
DH	60	130,265			****			
EC	50	147,317			****	****		
EC	60	172,355			****	****		
EC	40	171,214			****	****	****	
EV	40	169,141			****	****	****	
DH	50	192,804			****	****	****	
LF	-66	216,973				****	****	
DH	40	272,215						****

Tratamiento secado: EV: Secado al vacío; DH: Secado en Deshidratador; EC: Secado en Estufa Convencional; LF: Secado por Liofilización.

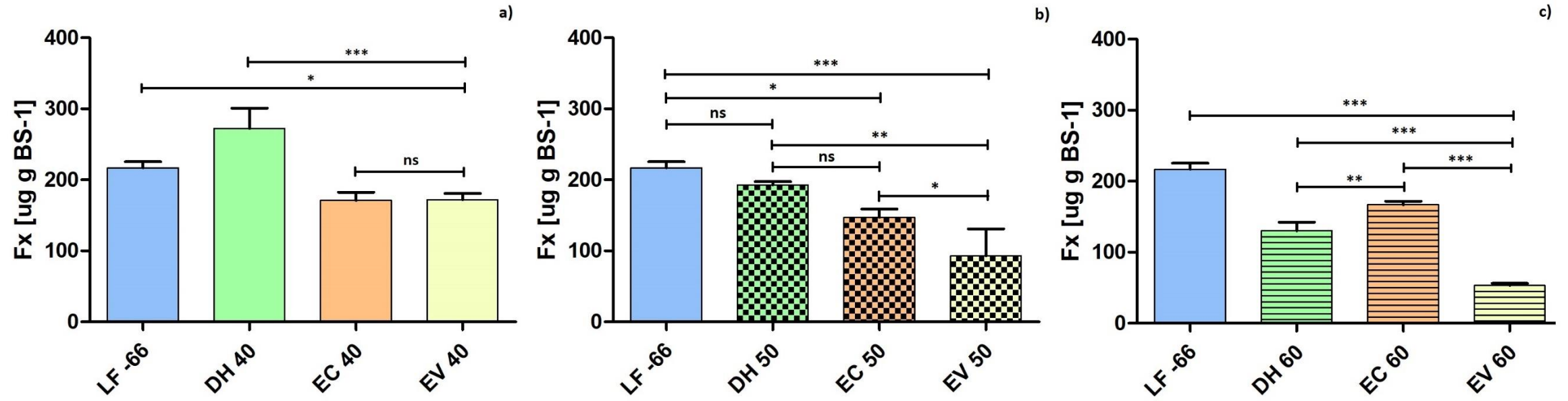
Para los tratamientos de secado a 40°C, el método DH es el más efectivo (Media: 272,21 ± 28,64; P<0.001) para la recuperación de esta molécula, con una diferencia muy significativa en comparación del método EV y método EC que, entre ellos, no hubo diferencias significativas. Y en comparación con el método LF, la diferencia fue significativa (Media: 216,97 ± 8,48; P<0.05).

Para los tratamientos de secado a 50°C, el método DH no mantuvo diferencia significativa con el método LF y el método EC (Media: 192,80 ± 4,81; Media: 216,97 ± 8,48 y Media: 147,32 ± 11,50, respectivamente; P>0,05). Sin embargo, mantuvo una diferencia significativa con el método EV (P<0,01). Mientras que, el método LF mostró una diferencia poco significativa con el método EC que, a su vez, mostró una diferencia poco significativa con el método EV (P<0,05). No obstante, el método LF mostró una diferencia muy significativa con este último método (P<0,001).

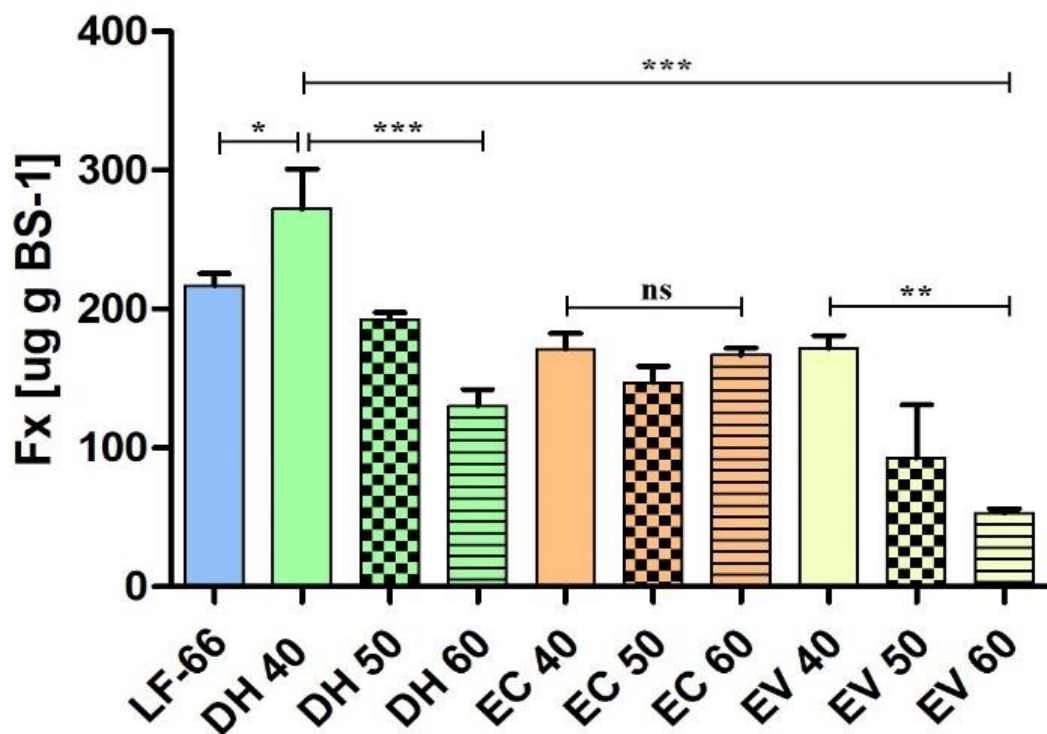
Para los tratamientos de 60°C, el método DH y el método EC mostraron una diferencia muy significativa con el método EV (Media: 130,26 ± 11,91; P<0,001; Media: 166,95 ± 4,75; P<0,001). Sin embargo, el método EC sólo mostró una diferencia significativa con el método DH (P<0,01). El método LF mostró una diferencia muy significativa frente a los tres métodos anteriores (Media: 216,97 ± 8,48; P<0,001).

En cuanto a la comparación de temperaturas dentro de un mismo método, se observó que en el método DH, el tratamiento a 40°C presentó una diferencia muy significativa respecto a las temperaturas de 50°C y 60°C (P<0,001). Para las temperaturas evaluadas en el método EC, se observó que no existía una diferencia significativa y, por último, las temperaturas evaluadas en el método EV sugirieron una diferencia significativa (P<0,01).

Se elaboró un gráfico comparativo para facilitar la visualización de los resultados (Figura 3).



**Figura 3.** A) Recuperación de contenido de fucoxantina en biomasa seca mediante diferentes métodos de secado a 40° comparado con método por Liofilización; B) Recuperación de contenido de fucoxantina en biomasa seca mediante diferentes métodos de secado a 50° comparado con método por Liofilización; C) Recuperación de contenido de fucoxantina en biomasa seca mediante diferentes métodos de secado a 60° comparado con método por Liofilización. Donde DH = Secado en Deshidratador; EC = Secado en Estufa Convencional; EV = Secado en Estufa al Vacío; LF = Secado por Liofilización; 40 = 40°C; 50 = 50°C; 60 = 60°C; -66 = -66°C. (n=3). Las barras indican la comparación entre muestras y los asteriscos la diferencia significativa. Las columnas que poseen asteriscos sobre su desviación estándar están comparadas con su respectivo par en orden de izquierda a derecha; \*poco significativo (P<0.05); \*\*significativo (P<0.01); \*\*\*muy significativo (P<0.001) y ns = no significativo.



**Figura 4.** Recuperación de contenido de fucoxantina en biomasa seca mediante diferentes métodos de secado a diferentes temperaturas. Comparación de todos los métodos.

Para asignar un valor competitivo a la recuperación de fucoxantina con un método de secado por deshidratación en la industria de los hidrocoloides, se hizo un análisis de literatura en base a la fucoxantina recuperada desde algas pardas mediante un método de secado natural, es decir, de exposición directa al sol; generalmente utilizado en el procesamiento de biomasa macroalgal para la extracción de alginato. Tal como se demuestra en el estudio descrito por Machado et. al. (2022), donde analizaron la composición bioquímica de distintas especies de macroalga del género *Sargassum*, entre ellas la abundancia de fucoxantina, empleando métodos de secado como liofilización y secado al sol. En la tabla 9 se expresa la comparación del método de secado utilizado en el presente estudio de recuperación de fucoxantina y el obtenido en las distintas especies de la macroalga *Sargassum sp.*

Tabla 9. Comparación de Recuperación de Fucoxantina ( $\mu\text{g g BS}^{-1}$ )  $\pm$  SD en distintos métodos de secado desde el ámbito competitivo con la metodología industrial.

Macroalga	Fucoxantina ( $\mu\text{g/g BS}$ )			Referencias
	Deshidratador (40°C)	Liofilización	Secado al sol	
<i>L.spicata</i> (Chome)	272,21 $\pm$ 28,64	216,97 $\pm$ 8,48	-	N/A
<i>Sargassum sp</i> (Port Royal)	-	272,26 $\pm$ 45,36	107,15 $\pm$ 10,72	Machado et al., 2022
<i>Sargassum sp</i> (Manchioneal)	-	503,81 $\pm$ 42,49	136,32 $\pm$ 16,48	
<i>Sargassum sp</i> (Port Maria)	-	261,68 $\pm$ 18,19	57,74 $\pm$ 22,67	

El análisis estadístico realizado mediante una prueba de T-student para muestras independientes permitió evaluar la diferencia entre los niveles de fucoxantina obtenidos a partir de estas dos fuentes de macroalgas: *Lessonia spicata* (LS DW) y *Sargassum sp.* (SS SD).

Dado que el valor absoluto del estadístico t calculado (6.076) es mayor que el valor crítico (2.13), rechazamos la hipótesis nula. Esto indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los dos grupos ( $p < 0,01$ ) (Tabla 10). Es decir, que el promedio de fucoxantina obtenido en LS DW (272,21  $\pm$  28,64  $\mu\text{g/g BS}$ ) es significativamente mayor que en SS SD (100,40  $\pm$  39,72  $\mu\text{g/g BS}$ ).

El resultado anterior sugiere que la biomasa de *Lessonia spicata* deshidratada a 40°C ofrece una mayor concentración de fucoxantina en comparación con *Sargassum sp.* deshidratado al sol por parte del estudio realizado en las costas de Jamaica (Machado et al., 2022). Debido a la poca información acerca del contenido de componentes bioquímicos de la macroalga *L. spicata*, seguir profundizando esta comparación es clave para optimizar los procesos de selección de estrategias de procesamiento que maximicen la recuperación de compuestos bioactivos de alto valor agregado.

Tabla 10. Comparación de Fx entre Lessonia (deshidratada a 40°C) y Sargassum (secada al sol) bajo prueba de T-student

	Media LS	Media SD	Valor-t	df	p	Valor crítico-t (95%)
LS DW vs SS SD	272,21	100,40	6,076	4	0,0037	2,13

Objetivo específico 2: Simular biomasa residual industrial de *L. spicata* a partir del proceso de extracción de alginato de sodio desde biomasa seca

El cálculo del contenido y del rendimiento en proporción de la extracción de alginato desde la biomasa seca de la macroalga *Lessonia spicata* se realizó en base a la siguiente fórmula:

$$Ec. 2. \text{Contenido (\%)} = \left( \frac{\text{Masa de alginato seco recuperado (g)}}{\text{Masa inicial de biomasa seca macroalgal (g)}} \right) \times 100$$

Sustituyendo en la fórmula los datos obtenidos:

$$\text{Contenido (\%)} = \left( \frac{5,542 \text{ g de alginato seco}}{80 \text{ g de biomasa seca macroalgal}} \right) \times 100 = 6,93\%$$

El resultado de la extracción del contenido de alginato fue necesario para medir el rendimiento de este compuesto en el tratamiento con solución hidroalcohólica. El criterio para calcular el rendimiento se basó en la cantidad de compuesto total existente en una macroalga parda, de 20 a 40 % de alginato en peso seco (Avendaño-Romero et al., 2013). Por lo que, para establecer un rendimiento del >99,9% se debe extraer, para este caso, 32g de alginato seco. Sin embargo, el experimento se realizó a escala de laboratorio, empleando métodos diseñados para ser compatibles con las características químicas y estructurales de la molécula de fucoxantina.

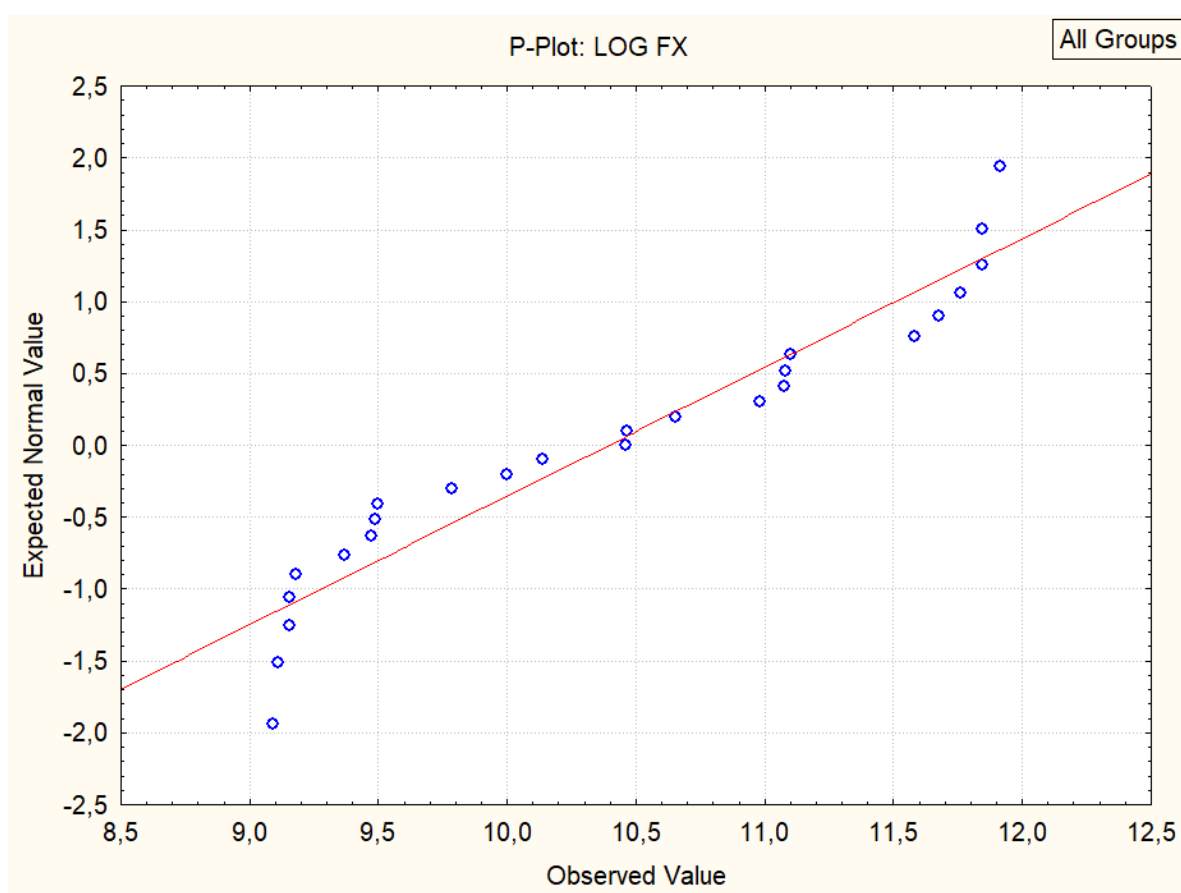
$$Ec. 3. \text{Rendimiento (\%)} = \left( \frac{5,542 \text{ g de alginato seco}}{32 \text{ g de alginato total teórico}} \right) \times 100 = 17,32\%$$

Por una parte, si bien el contenido de alginato obtenido (6.93%) fue inferior al porcentaje estimado en estudios previos o valores teóricos reportados en la literatura, el proceso permitió recuperar una cantidad suficiente de alginato seco y se obtuvo un rendimiento (17,32%) cercano al establecido en la industria, que por lo general ofrecen rendimientos de alginato de sodio en torno al 24,4% (Canadell, A., s.f.). Por consiguiente, la biomasa se separó en dos grupos para continuar con el análisis de extracción: biomasa seca con alginato (A) y biomasa seca sin alginato (B)

Objetivo específico 3: Seleccionar el proceso de extracción de fucoxantina desde la macroalga *Lessonia spicata*

#### 5.4 Extracción de los métodos empleados en la macroalga *Lessonia spicata*

Los datos obtenidos para determinar el método de secado óptimo para la fucoxantina desde la macroalga *Lessonia spicata* fueron ingresados al software estadístico "Statistica 4.1" y se procedió a ejecutar un análisis de varianzas de una vía (*one way – ANOVA*). Como primera instancia, se evaluó la determinación de normalidad (p-plot) y homogeneidad de las varianzas bajo la prueba de Levene, sometiendo la variable de concentración de fucoxantina ( $\text{FX ug g}^{-1}$ ) a una serie de transformaciones de datos. Tras las comparaciones entre datos normativos, se observó que el valor de normalidad de las muestras se presentaba en las concentraciones de fucoxantina sometidas a la razón logarítmica (LOG Fx). (Figura 4).



**Figura 4.** Análisis de normalidad para la concentración de fucoxantina; Variable LOG Fx (expresión logarítmica variable Fx  $\text{ug g}^{-1}$ ). Software Statistica 4.1

Con base en los datos presentados (*Tabla 12*), se observa que, entre los métodos de extracción evaluados, la mayor concentración de fucoxantina se obtuvo mediante el método de extracción con fluidos supercríticos (SFE) utilizando CO<sub>2</sub> en estado supercrítico como solvente. Este proceso registró una concentración promedio de  $73,84 \pm 7,19 \mu\text{g g BS}^{-1}$  en el grupo de biomasa con alginato (Grupo A), mientras que para el grupo de biomasa sin alginato (Grupo B) se registró una concentración promedio de  $46,66 \pm 9,64 \mu\text{g g BS}^{-1}$ . Por otro lado, al emplear etanol como co-solvente en el mismo método (SFE-E), la concentración de fucoxantina fue significativamente menor en comparación con el procedimiento inicial en ambos grupos (Media:  $12,16 \pm 0,33 \mu\text{g g BS}^{-1}$ ; Media:  $5,68 \pm 3,5 \mu\text{g g BS}^{-1}$ , respectivamente). Como método comparativo, se aplicó las mismas técnicas de extracción a una muestra de Biomasa Residual Industrial (BRI) donde el contenido de fucoxantina que se obtuvo mediante SFE fue de  $30,187 \mu\text{g g BS}^{-1}$ , mientras que para SFE-E se obtuvo una concentración de  $3,602 \mu\text{g g BS}^{-1}$  (Figura 5a).

Por otro lado, los métodos de extracción mediante maceración dinámica (MD) y Soxhlet no cumplieron con las expectativas, obteniendo concentraciones mínimas o prácticamente nulas en comparación con los métodos SFE y SFE-E. (Figura 5b).

El análisis de varianza de una vía (one way – ANOVA; Tabla 11) sugiere que existen diferencias significativas entre el método de extracción SFE y SFE-E frente a los otros métodos ( $p < 0,05$ ).

Tabla 11. Análisis de varianza de una vía de datos obtenidos desde las muestras de fucoxantina mediante extracción SFE

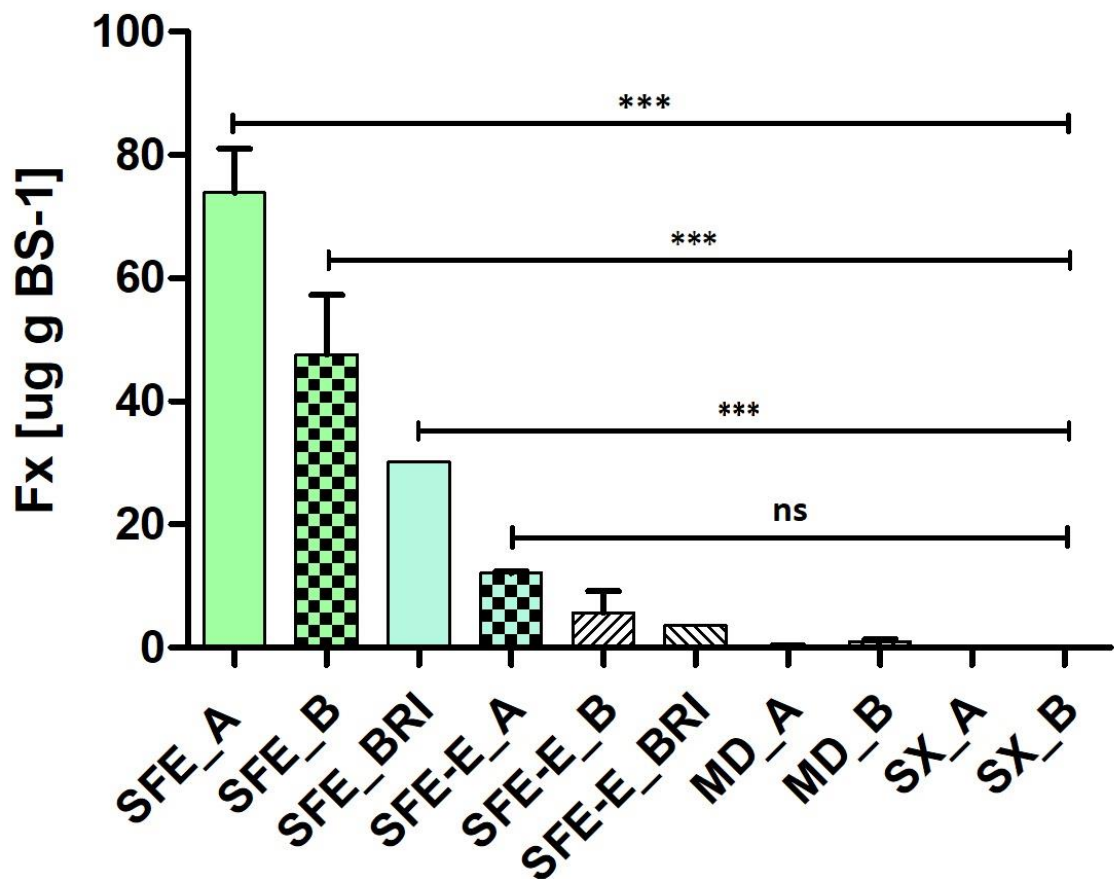
Efecto	Grado de libertad	Log Fx $\mu\text{g gBS}^{-1}$ SS	Log Fx $\mu\text{g gBS}^{-1}$ MS	Log Fx $\mu\text{g gBS}^{-1}$ F	Log Fx $\mu\text{g gBS}^{-1}$ p
TTO*GP	3	0,83566	0,278553	10,6264	0.000435
Error	16	0,41941	0,026213		
Total	24	25,30986			

El análisis posterior (*Tukey test HSD*) muestra que existe una diferencia estadística entre el método SFE (grupo A) y el método SFE (grupo B) ( $P < 0.05$ ). Mientras que, comparado con los métodos SFE-E (grupo A y B), MD (grupo A y B), SX (grupo A y B) y BRI mostró que existe una diferencia muy significativa ( $P < 0.001$ ). No obstante, la finalidad de la comparación es determinar si el residuo macroalgal contiene fucoxantina; esto se muestra en el método SFE (grupo B), el cual muestra una diferencia significativa con la muestra BRI (Biomasa Residual Industrial) (SFE\_B; Media:  $47,66 \pm 9,64 \mu\text{g g BS}^{-1}$ ;  $P < 0,001$ ).

Tabla 12. Fucoxantina en diferentes métodos de extracción de fucoxantina en biomasa con y sin alginatos

Nº Muestra	Metodología Extracción	Grupo	Código	Fx [ $\mu\text{g gBS}^{-1}$ ]
1	SFE	A	SFE_A_1	82,151
2	SFE	A	SFE_A_2	69,560
3	SFE	A	SFE_A_3	69,821
4	SFE	B	SFE_B_1	57,518
5	SFE	B	SFE_B_2	47,228
6	SFE	B	SFE_B_3	38,251
7	MD	A	MD_A_1	0,313
8	MD	A	MD_A_2	0,306
9	MD	A	MD_A_3	0,129
10	MD	B	MD_B_1	1,367
11	MD	B	MD_B_2	0,998
12	MD	B	MD_B_3	0,608
13	SX	A	SX_A_1	0,0151
14	SX	A	SX_A_2	0,0206
15	SX	A	SX_A_3	0,0541
16	SX	B	SX_B_1	0,0227
17	SX	B	SX_B_2	0,0876
18	SX	B	SX_B_3	0,0202
19	SFE-E	A	SFE-E_A_1	11,894
20	SFE-E	A	SFE-E_A_2	12,047
21	SFE-E	A	SFE-E_A_3	12,542
22	SFE-E	B	SFE-E_B_1	4,510
23	SFE-E	B	SFE-E_B_2	2,926
24	SFE-E	B	SFE-E_B_3	9,626
25	SFE	BR Industrial	SFE-BRI	30,187
26	SFE-E	BR Industrial	SFE-E BRI	3,602
*27	SFE	<i>P. Tricornutum</i>	UTEX 646	33400

*SFE-E: Extracción con Fluidos Supercríticos con cosolvente etanol; SX: Extracción Soxhlet; MD: Extracción por Maceración Dinámica; SFE: Extracción con Fluidos Supercríticos CO<sub>2</sub>; BR Biomasa residual industrial. 1, 2, 3: Replicas. \*Datos obtenidos desde Proyecto FONDEF ID221-10214. "Incremento de la producción de fucoxantina en *P. tricornutum* mediante ingeniería metabólica para su uso en la industria nutracéutica". GIBMAR, (2025) (Anexo 4).*



**Figura 5.** Concentración de fucoxantina extraída expresada en  $\mu\text{g gBS}^{-1}$  desde los métodos de extracción evaluados para cada grupo de muestra. Donde SFE: Extracción con Fluidos supercríticos  $\text{CO}_2$ ; SFE-E: Extracción con Fluidos supercríticos con cosolvente etanol; MD: Maceración dinámica; SX: Extracción Soxhlet; BRI: Biomasa Residual Industrial; A = Biomasa con alginato; B = Biomasa sin alginato. ( $n=3$ ) las barras indican la comparación entre muestras y los asteriscos la diferencia significativa: \*poco significativo ( $P<0.05$ ); \*\*significativo ( $P<0.01$ ); \*\*\*muy significativo ( $P<0.001$ ) y ns = no significativo.

Estos resultados respaldan el uso del método SFE como una técnica eficiente y prometedora para la obtención de moléculas polares como la fucoxantina.

#### 5.4.1 Proyección de la valorización de fucoxantina obtenida desde

##### *Lessonia spicata*

Se realizó una exploración del potencial comercial donde se comparó la fucoxantina obtenida desde la biomasa residual simulada de *Lessonia spicata* y la biomasa residual industrial. La estimación del valor comercial de la fucoxantina producida se hizo a partir de los valores de mercado que poseen los productos “ricos” o “con agregado de fucoxantina”. En promedio, un producto comercial de fucoxantina contiene unas 60 unidades con 30 mg/porción (1 unidad) con un valor de \$12 aproximadamente. Bajo este método, al estimar la producción industrial de fucoxantina, se considera una base de cálculo de una tonelada de residuo. Con esta cantidad se puede producir 47.60 gramos de fucoxantina total y fabricar 1589 cápsulas con un contenido de 30 mg de fucoxantina por cada una, lo cual se traduce a un valor neto de 318 dólares (Tabla 13) (detalles del cálculo y supuestos en el Anexo 2).

Tabla 13. Variación de la valorización para la producción de Fucoxantina, según el producto comercial promedio de la industria nutracéutica

	Contenido de Fx en el extracto [ $\mu\text{g} \cdot \text{gBS}^{-1}$ ]	Fucoxantina por Tonelada [ $\text{mgFx} \cdot \text{TonBS}^{-1}$ ]	Cantidad de Fx por porción de producto [mg]	Proyección de cápsulas estimadas	Precio [USD · cápsula <sup>-1</sup> ]	Valorización Fx por tonelada [USD]
<i>L. spicata</i> (SFE_B)	47,66	47600	30	1589	0.20	318
Residuo Industrial (SFE_BRI)	30,18	30187	30	1006	0.20	201
*P. <i>tricornutum</i> (UTEX 646)	33400	$3,34 \times 10^7$	30	$1,11 \times 10^6$	0.20	222000

Objetivo específico 4: Determinar la capacidad antioxidante del extracto a partir de la biomasa residual obtenida desde el método de extracción de fucoxantina seleccionado compa

La fucoxantina obtenida desde los métodos SFE, SFE-E y la muestra de biomasa residual industrial (BRI) fueron sometidos a ensayos de capacidad oxidante FRAP, ABTS y DPPH (Tabla 14). Se analizó tanto el grupo A como el grupo B, para justificar el rol estabilizador del alginato en la estructura química de la macroalga al evidenciarse una reducción parcial de la actividad antioxidante, así como la concentración de fucoxantina, expresada en el objetivo anterior (ver Figura 5). Sin embargo, los resultados de interés son los provenientes exclusivamente del grupo B y la muestra BRI, ya que la finalidad del análisis es la comparación de una biomasa sin alginato simulada con lo que se obtiene desde la industrial de los hidrocoloides, aunado a la capacidad antioxidante hallada en *P. tricornutum*.

La actividad antioxidante de la muestra BRI, obtenida mediante el método de extracción SFE, predomina en los ensayos ABTS y DPPH (107, 19  $\mu\text{M}$  TE y 273,44  $\mu\text{M}$  TE, respectivamente), significativamente mayor que la obtenida por la macroalga *Lessonia spicata* sin alginato (54,60  $\pm$  5,29  $\mu\text{M}$  TE y 99,92  $\pm$  31,15  $\mu\text{M}$  TE, respectivamente). Esto sugiere que la fucoxantina remanente del proceso industrial de extracción de alginato posee una alta capacidad inhibidora de radicales libres. Por otra parte, la capacidad antioxidante resultantes de estos mismos ensayos en la fucoxantina obtenida mediante el método de extracción SFE-E se muestra parcialmente reducida, asociado a la extracción de sustancias más polares y compatibles con el solvente utilizado; modificando la selectividad de extracción y comprometiendo la concentración de fucoxantina.

En cuanto al ensayo FRAP, se puede observar una alta capacidad quelante del ión férrico por parte de la fucoxantina obtenida desde el método de extracción SFE (grupo B; Media:  $202,28 \pm 6,10 \mu\text{M TE}$ ), seguido por la muestra SFE-E (grupo B; Media:  $198,46 \pm 58,26 \mu\text{M TE}$ ), la muestra SFE BRI ( $180,16 \mu\text{M TE}$ ) y por último la muestra SFE-E BRI ( $95,8 \mu\text{M TE}$ ). Los resultados de este ensayo sugieren que las muestras analizadas desde un método de extracción sin co-solvente presentan una alta capacidad antioxidante, lo que se suma al punto mencionado anteriormente, el cual detalla que la adición de solventes polares compromete la estructura de la fucoxantina, obstaculizando su capacidad reductora. Por lo tanto, es fundamental seguir explorando estrategias para optimizar este proceso, para obtener un extracto de fucoxantina de alta pureza y con una actividad antioxidante elevada, adecuado para su aplicación en la industria nutracéutica.

Tabla 14. Ensayo de Capacidad Antioxidantes de Fucoxantina obtenida desde Extracción SFE y SFE-E. Medidas en unidades de Trolox Equivalentes ( $\mu\text{M TE}$ )

Ensayos Capacidad Antioxidante					
Tipos de extracción	Grupo	Fx [ $\mu\text{g gBS}^{-1}$ ]	ABTS	DPPH	FRAP
SFE	con alginato	82,15	72,80	176,60	269,00
SFE	con alginato	69,56	78,00	109,90	258,10
SFE	con alginato	69,82	70,80	117,20	297,00
	Media	<b>75,86</b>	<b>75,40</b>	<b>143,25</b>	<b>263,55</b>
	SD	8,90	3,68	47,16	7,71
SFE	sin alginato	57,52	56,01	135,87	206,95
SFE	sin alginato	47,23	59,05	83,19	195,38
SFE	sin alginato	38,25	48,75	80,71	204,52
	Media	<b>47,67</b>	<b>54,60</b>	<b>99,92</b>	<b>202,28</b>
	SD	9,64	5,29	31,15	6,10
SFE	BRI	30,18	<b>107,19</b>	<b>273,44</b>	<b>180,16</b>
SFE-E	con alginato	11,89	35,10	125,90	294,10
SFE-E	con alginato	12,05	46,50	104,20	462,70
SFE-E	con alginato	12,54	45,10	62,14	185,60
SFE-E	Media	<b>12,16</b>	<b>42,23</b>	<b>97,41</b>	<b>314,13</b>
SFE-E	SD	0,34	6,22	32,42	139,63
SFE-E	sin alginato	4,51	21,66	77,68	181,45
SFE-E	sin alginato	2,93	26,46	59,30	263,33
SFE-E	sin alginato	9,63	36,59	50,42	150,59
	Media	<b>5,69</b>	<b>28,24</b>	<b>62,47</b>	<b>198,46</b>
	SD	3,50	7,62	13,90	58,26
SFE-E	BRI	3,60	<b>57</b>	<b>145,4</b>	<b>95,8</b>
SFE	*Cepa Nativa ( <i>P. tricornutum</i> )				
	Media	190,386	<b>11,95</b>	<b>62,14</b>	<b>31,33</b>
	SD	34,08	4,01	13,51	1,53
SFE	*Cepa Sobreproductora ( <i>P. tricornutum</i> )				
	Media	322,094	<b>12,28</b>	<b>62,64</b>	<b>27,67</b>
	SD	51,49	1,09	9,17	3,06

\*Datos obtenidos de Proyecto Fondef ID22I-10214. "Incremento de la producción de fucoxantina en *P. tricornutum* mediante ingeniería metabólica para su uso en la industria nutracéutica". Hito 2: "Determinación del grado de pureza y caracterización química y funcional de la fucoxantina proveniente de la nueva cepa sobreproductora seleccionada de *P. tricornutum* (Anexo 5).

## 5.5 Resultados finales

En el presente estudio, caracterizamos la biomasa residual industrial simulada de la macroalga *Lessonia spicata*, evaluando la capacidad antioxidante de su extracto etanólico y el contenido remanente de fucoxantina tras la extracción del alginato bajo condiciones simuladas. Nuestros resultados indican que dicha biomasa residual conserva una cantidad significativa de fucoxantina, la cual podría ser aprovechada como compuesto bioactivo en la industria nutracéutica.

Específicamente, la biomasa residual industrial simulada presentó un remanente de fucoxantina extraída mediante CO<sub>2</sub> como fluido supercrítico de  $47,60 \pm 9,64$  g por tonelada de biomasa residual, con una elevada capacidad antioxidante. Esta actividad fue cuantificada mediante el método ABTS, con un valor de  $54,60 \pm 5,29$   $\mu$ M TE, DPPH con  $99,92 \pm 31,15$   $\mu$ M TE, y FRAP con  $202,28 \pm 6,10$   $\mu$ M TE. Comparativamente, estos valores son superiores a los reportados para la fucoxantina obtenida desde *Phaeodactylum tricornutum* (ver Tabla 14), la cual presenta una capacidad antioxidante de 11,95  $\mu$ M TE por ABTS, 31,33  $\mu$ M TE por FRAP y 62,14  $\mu$ M TE por DPPH (datos obtenidos por el grupo de investigación GIBMAR; Anexo 5). Estos hallazgos sugieren que la biomasa residual de *L. spicata* posee un alto potencial para la obtención de fucoxantina de alto valor antioxidante.

La elevada capacidad antioxidante de esta biomasa podría atribuirse a la presencia de compuestos bioactivos remanentes, como los polifenoles. En este sentido, una caracterización química más exhaustiva permitiría aportar valor agregado a este residuo. Estos resultados son consistentes con los reportados por Savic et al. (2024), quienes evaluaron la revalorización del residuo etanólico generado en la extracción de alginato desde la macroalga *Laminaria digitata*. En dicho estudio, los autores identificaron 41 compuestos en la fracción etanólica, incluyendo compuestos con actividad antimicrobiana, y evaluaron su capacidad antioxidante, demostrando que los residuos de procesos industriales

establecidos pueden ser una fuente aprovechable de compuestos bioactivos.

Asimismo, Beratto et al. (2017) caracterizaron químicamente y determinaron la capacidad antioxidante de la biomasa de dos algas pardas, *Lessonia spicata* y *Macrocystis pyrifera*, concluyendo que ambas son fuentes importantes de polifenoles. En particular, la biomasa de *L. spicata* exhibió una capacidad antioxidante superior a la de *M. pyrifera*, lo que refuerza la hipótesis de que los compuestos bioactivos presentes en estas macroalgas constituyen una fracción relevante de su biomasa.

Finalmente, un análisis detallado del contenido de proteínas, fibras, minerales y otros compuestos bioactivos remanentes, así como la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos a partir de la biomasa residual de *L. spicata*, permitiría explorar su potencial de revalorización. Además, la realización de un análisis económico que determine la viabilidad de su aprovechamiento integral contribuiría a reducir la brecha económica y fomentar la economía circular.

## 6. Discusión

### 6.1 Selección del método de secado más eficiente

En el ámbito industrial, el secado de algas varía según las necesidades y especialización de cada empresa. En el caso de las industrias dedicadas a la extracción de hidrocoloides, no se consideran adecuadamente los parámetros necesarios para conservar los componentes fotosensibles presentes en algas de la clase *Phaeophyceae*. Estas empresas suelen emplear métodos como el secado al sol, que se realiza bajo condiciones ambientales y se procesan aproximadamente 65.304 toneladas de macroalgas del género *Lessonia* (Instituto de Ciencia y Tecnología - ICYT; Subpesca, 2014). Por otro lado, en la industria alimentaria, el secado por aire caliente es una de las operaciones unitarias más utilizadas. Este proceso depende de factores internos como el espesor y la geometría del producto, así como de condiciones externas tales como temperatura, humedad relativa y velocidad del aire (Gálvez et al., 2007).

Los métodos de secado de algas muestran resultados inversamente proporcionales en cuanto a la concentración de fucoxantina y la temperatura utilizada durante los tratamientos. Por ello, al recuperar fucoxantina en procesos de secado, es fundamental considerar su fotosensibilidad. En primer lugar, durante la metodología, el menor rango de concentración de fucoxantina se observó en el secado al vacío a 60 °C, debido a que este método opera con niveles más altos de humedad residual por condensación, lo que puede favorecer reacciones no deseadas, como la oxidación o la degradación enzimática, comprometiendo su estabilidad. En segundo lugar, el mayor rango de concentración de fucoxantina se obtuvo mediante el uso de un deshidratador a 40 °C, ya que este proceso, al operar a menor temperatura, permite preservar compuestos bioactivos sensibles al calor. Además, su sistema de circulación

constante de aire elimina la humedad de manera gradual y controlada, lo que reduce significativamente la degradación de los componentes.

En este contexto, el deshidratador se diferencia de los tratamientos realizados en horno convencional, ya que este último carece de mecanismos específicos para el control de la humedad, lo que resulta en un secado más agresivo y poco uniforme. Aunque el secado en horno es más rápido, puede provocar pérdidas en la calidad, tanto en las propiedades funcionales como estructurales, debido a su modo de operación.

Por otra parte, el método de liofilización, aunque trabaja a temperaturas bajo 0 °C y preserva la fucoxantina casi por completo, presenta desventajas. Es un proceso costoso, de desarrollo lento y no garantiza necesariamente una mayor concentración de compuestos. Además, al incluir etapas como la congelación y la sublimación, puede dificultar la liberación de compuestos bioactivos al mantener intactas las paredes celulares durante la operación. Por lo tanto, aunque la liofilización es eficaz para preservar compuestos bioactivos, su menor capacidad para liberar fucoxantina, sumada a sus altos costos, la convierte en una opción menos práctica para este objetivo específico.

## 6.2 Simulación de biomasa industrial: extracción de alginato

El método utilizado para la extracción de hidrocoloides, en este caso alginato, desde la biomasa seca de *L. spicata* se fundamentó en el interés por observar el cambio estructural y químico de la fucoxantina originaria de una macroalga fresca, bajo condiciones de una matriz intacta sin ser sometida a un estrés mecánico que degradara el carotenoide. Como el objetivo específico contemplaba únicamente la extracción del alginato desde la biomasa seca y no su purificación, se optó por un método afín a la molécula de interés. Este consistió en el uso de una solución hidroalcohólica, donde el etanol actuó como agente deshidratante activo. El etanol rompió enlaces entre los polisacáridos y redujo la interacción del alginato con otros componentes celulares, lo que permitió la precipitación del gel al disminuir la polaridad del medio acuoso.

No obstante, el uso de etanol en este procedimiento no es común en la industria. Se realizó una comparación con una metodología industrial estándar que incluyó un pretratamiento con ácido diluido para ablandar tejidos y eliminar compuestos fenólicos, seguido de una digestión básica y finalizando con una etapa de purificación. En esta última, el alginato se suspendió en etanol para precipitarse y recuperarse en forma sólida, obteniéndose cerca de un tercio del peso de la biomasa seca en alginato seco. Sin embargo, al concluir este procedimiento, la biomasa resultó químicamente dañada, lo que la hizo inadecuada para análisis posteriores. Por esta razón, se descartó la continuidad de dicha metodología. Por lo general, los métodos industriales de extracción de alginato ofrecen rendimientos de alginato de sodio en torno al 24,4%, con una viscosidad en solución al 1,25% de 440 cps, comparable a productos comerciales de viscosidad media (Canadell, A., s.f.).

El experimento dio como resultado una eliminación de alginato correspondiente

a un 6,93% de la biomasa (DW) con un rendimiento del 17,32%, en comparación al 33,33% que se obtuvo replicando el método industrial inconcluso no purificado. Este rendimiento fue suficiente para evaluar las condiciones requeridas por la investigación.

### 6.3 Selección del método de extracción más eficiente

La Maceración Dinámica consiste en la inmersión de la biomasa en etanol con agitación constante, lo que facilita la disolución de compuestos solubles en este solvente, como la fucoxantina. Esta técnica presenta una ventaja significativa frente a otros métodos debido a su bajo costo y simplicidad. Sin embargo, el extracto de fucoxantina se ve afectado negativamente por el prolongado tiempo de operación requerido. Además, como se muestra en los resultados, la fucoxantina experimentó una degradación considerable durante el proceso. Asimismo, el extracto obtenido presentó una precipitación de otras sustancias, atribuida a la acción precipitante del etanol. Estos hallazgos fueron similares a los obtenidos mediante el método de extracción Soxhlet.

En este último, el solvente, al evaporarse y condensarse continuamente a través de la biomasa, permitió una extracción más eficiente de pigmentos, como la clorofila, lo que se reflejó en el agotamiento de la muestra. Dado que se utilizaron cantidades reducidas de biomasa, el tiempo de exposición de la fucoxantina al calor fue menor. No obstante, el empleo de temperaturas elevadas provocó la degradación completa de la molécula de fucoxantina, dejando únicamente la clorofila en el extracto final. En consecuencia, estos métodos, debido a sus largos tiempos de operación, la necesidad de altas temperaturas y el requerimiento de grandes volúmenes de muestra, no resultan adecuados para su extracción.

Por otro lado, el CO<sub>2</sub> supercrítico presenta propiedades intermedias entre un líquido y un gas, lo que le permite penetrar eficientemente en matrices sólidas y disolver compuestos lipofílicos como la fucoxantina. Su baja polaridad lo hace

selectivo para compuestos no polares o ligeramente polares. Además, la ausencia de cosolventes garantiza un extracto libre de residuos de solventes orgánicos, obteniendo productos con alta concentración de fucoxantina. La adición de etanol al CO<sub>2</sub> supercrítico incrementa la polaridad del solvente, favoreciendo la extracción de compuestos más polares. No obstante, dado que la fucoxantina es moderadamente polar, un aumento excesivo en la polaridad del solvente podría reducir su solubilidad y, por ende, disminuir la eficiencia de extracción.

Adicionalmente, la presencia de etanol en la mezcla puede favorecer la coextracción de otros compuestos polares, lo que afecta la pureza del extracto de fucoxantina, como se evidenció en las concentraciones obtenidas en ambos tratamientos. Si bien el CO<sub>2</sub> supercrítico, incluso sin la adición de etanol, también tiende a coextraer otros compuestos junto con la fucoxantina, el rendimiento en términos de la proporción de fucoxantina en el extracto es superior, lo que lo convierte en un método más eficiente en comparación con los procesos convencionales.

Al comparar estos resultados con estudios previos sobre la extracción de fucoxantina en *Phaeodactylum tricornutum*, se observan diferencias notables. En la literatura, la adición de etanol como co-solvente en SFE ha demostrado aumentar significativamente la extracción de fucoxantina en microalgas, con recuperaciones de hasta 66,60% p/p y purezas de 85,03 mg/g de extracto. En contraste, en este estudio, el uso exclusivo de CO<sub>2</sub> supercrítico en *Lessonia spicata* proporcionó la mayor concentración de fucoxantina, mientras que la adición de etanol resultó en una menor recuperación del compuesto.

Estas diferencias pueden atribuirse a la naturaleza distinta de las matrices biológicas involucradas. Las microalgas, como *Phaeodactylum tricornutum*, presentan una pared celular más delgada y una composición lipídica diferente, lo que podría favorecer la solubilización de fucoxantina en presencia de etanol. En cambio, las macroalgas, como *Lessonia spicata*, contienen una estructura celular más compleja, con una matriz rica en polisacáridos como el alginato, que podría influir en la eficiencia de extracción bajo condiciones similares.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la eficacia de SFE en la extracción de fucoxantina depende tanto de los parámetros del proceso (presión, temperatura, tipo de solvente) como de la biomasa utilizada. Mientras que en *Phaeodactylum tricornutum* el etanol como co-solvente optimiza la extracción, en *Lessonia spicata* podría no ser beneficioso o requerir ajustes en las condiciones del proceso para evitar efectos adversos en la solubilidad del compuesto.

Por lo que, la influencia del alginato en la extracción de fucoxantina en *Lessonia spicata* representa un factor clave que no ha sido reportado en estudios previos con microalgas. La menor concentración de fucoxantina en el Grupo B (sin alginato) sugiere que una parte significativa del compuesto podría perderse o degradarse durante el proceso de extracción del polisacárido. Por lo tanto, la recuperación de fucoxantina a partir de estos residuos podría contribuir a una valorización integral de la biomasa, promoviendo un modelo de producción más sostenible y eficiente dentro de la industria de las macroalgas.

#### 6.4 Determinación de la capacidad antioxidante

En FRAP, la diferencia observada entre SFE y SFE-E se atribuye a la adición de etanol como cosolvente, lo que puede modificar la selectividad de extracción hacia compuestos con menor capacidad reductora en las muestras de biomasa sin alginato (SFE Grupo B, Media:  $202,28 \pm 6,10 \mu\text{M TE}$ ; SFE-E Grupo B, Media:  $198,46 \pm 58,26 \mu\text{M TE}$ ); esta diferencia se observa con más notoriedad en las muestras de biomasa con alginato (SFE-E Grupo A, Media:  $314,13 \pm 139,63 \mu\text{M TE}$ ; SFE Grupo A, Media:  $263,55 \pm 7,71 \mu\text{M TE}$ ), donde la concentración de clorofila predominó en el extracto obtenido mediante SFE-E (grupo A), lo que se puede equivaler al grupo B debido a la poca concentración de fucoxantina en el extracto. Se puede inferir que en BRI (SFE-E), al ser el valor más bajo (Media:  $95,8 \mu\text{M TE}$ ), los compuestos remanentes sufren cambios en su composición química debido a la naturaleza de la muestra, implicando procesos químicos muy agresivos, sumado a la técnica de extracción de fucoxantina utilizada en este estudio. Sin embargo, las diferencias no logran ser muy significativas en comparación al Grupo B.

Se observan diferencias en los resultados correspondientes a la muestra SFE-E con relación a sus otros ensayos, esto se atribuye a factores relacionados con las características del ensayo y la naturaleza de los antioxidantes presentes en el concentrado. Como se mencionó previamente, el ensayo FRAP evalúa la capacidad reductora de los antioxidantes al transformar el ion férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), favoreciendo compuestos antioxidantes de naturaleza hidrofílica. Si bien la muestra analizada presentó una baja concentración de fucoxantina, el elevado resultado obtenido podría explicarse por la alta presencia de clorofila extraída con este método. La clorofila, aunque no es un antioxidante directo, posee la capacidad de transferir electrones gracias al ion magnesio ( $\text{Mg}^{2+}$ ) situado en el centro de su estructura porfirínica (Dorantes-Salazar et al., 2023).

En ABTS, la menor actividad de SFE-E (Media:  $28,24 \pm 7,62$ ) se asocia a

modificaciones en la estructura de la fucoxantina o a la extracción de compuestos menos polares que podrían comprometer la actividad antioxidante en esta matriz.

En cuanto al ensayo DPPH, estudios previos indican que la fucoxantina exhibe una actividad antioxidante comparable al ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y superior al ácido ascórbico (Kawee-ai et al., 2013). La alta variabilidad en los valores obtenidos para SFE sugiere una posible heterogeneidad en la composición de los extractos, lo que podría estar influenciado por la eficiencia del proceso de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico, la selectividad hacia ciertos compuestos antioxidantes y la previa extracción del alginato que conforma parte de la estructura de la matriz de la macroalga.

## 7. Conclusiones y Proyecciones

### 7.1.1 Método de Secado Seleccionado

Se concluye que tanto la temperatura como el mecanismo de acción del secado son factores relevantes para la preservación del contenido de fucoxantina en algas pardas. El secado mediante aire caliente es más eficiente debido a su mecanismo que ayuda a controlar los parámetros necesarios para que la molécula de fucoxantina no se vea comprometida a diferentes reacciones químicas (oxidación). Sin embargo, queda abierta la posibilidad de seguir investigando los procesos para obtener tanto tecnologías más eficientes y sostenibles como procesos económicos para una posterior valorización de compuestos bioactivos de alto valor agregado como la fucoxantina.

### 7.1.2 Simulación de biomasa residual

Se concluye que, la aplicación de una solución hidroalcohólica en biomasa seca de *Lessonia spicata* fomenta la extracción de cantidades considerables de alginato y se obtiene un residuo similar al producido a escala industrial. No obstante, el proceso reduce significativamente la concentración final de fucoxantina en el extracto debido a la tendencia del etanol a coextraer mayoritariamente otros compuestos presentes en la matriz de la macroalga, como lo es la clorofila. Por lo que es necesario encontrar maneras más compatibles y eficientes con los parámetros químicos y físicos de la molécula de fucoxantina.

### 7.1.3 Método de Extracción Seleccionado

Se concluye que la extracción con fluidos supercríticos utilizando CO<sub>2</sub> como único solvente es el método más eficaz para obtener fucoxantina, debido al mecanismo de acción del CO<sub>2</sub> en estado supercrítico. Este enfoque permite obtener un extracto con un menor contenido de compuestos orgánicos no deseados, lo que mejora la pureza relativa de la fucoxantina. Sin embargo, estos resultados contradicen la evidencia existente en la literatura, que destaca el uso de etanol como cosolvente para incrementar el rendimiento de extracción, sobre todo en organismos microscópicos productores de fucoxantina, como se evidenció en la diatomea *P. tricornutum*. Además, se considera relevante tener en cuenta factores experimentales como la cantidad de muestra utilizada y la especie de alga parda seleccionada, ya que estos elementos pueden influir significativamente en los resultados obtenidos.

### 7.1.4 Capacidad Antioxidante del Concentrado de Fucoxantina

Se concluye que la fucoxantina obtenida de los descartes de la industria de los hidrocoloides presenta una elevada capacidad reductora del ión férrico y, además, neutraliza de manera moderada los radicales DPPH• y ABTS<sup>+</sup>; significativamente mayor a la obtenida por la cepa sobreproductora de *P. tricornutum* (hasta 5 veces mayor). Cabe destacar, que la comparación con los resultados reportados en la literatura resalta la importancia de continuar investigando el comportamiento del extracto puro de fucoxantina mediante métodos de extracción seleccionados y optimizados. Esto resulta fundamental para maximizar su capacidad antioxidante, lo que constituye un aspecto clave para su potencial aplicación en la industria nutracéutica.

Finalmente, se plantea que los descartes generados por la industria de los hidrocoloides, en particular por las multinacionales productoras de alginato, pueden contener cantidades significativas de fucoxantina y poseer una notable capacidad antioxidante. Desde la perspectiva de la biorrefinería, estos subproductos representan una oportunidad valiosa para ampliar el conocimiento científico y fomentar el uso de biotecnología sostenible, en concordancia con los principios de economía circular y pensamiento verde, evitando prácticas como la sobreexplotación de recursos marinos. No obstante, los descartes industriales de macroalgas pardas no constituyen una alternativa competitiva frente a la diatomea *Phaeodactylum tricornutum* en la producción de fucoxantina, dado que su extracción desde macroalgas es hasta mil veces menor, pero la composición de las macroalgas favorece la capacidad antioxidante de la fucoxantina, expresando un valor más alto que las microalgas (ver Tabla 14). Por ello, es fundamental continuar investigando el desarrollo de procesos eficientes que permitan la obtención de fucoxantina con alta capacidad antioxidante a partir de estos descartes industriales, garantizando su calidad y seguridad para aplicaciones en la industria nutracéutica. Esto requiere la optimización de métodos de extracción de alginato y el establecimiento de parámetros que preserven la integridad de la molécula de fucoxantina y sus propiedades bioactivas, como la capacidad antioxidante, maximizando así su potencial beneficio para la salud humana.

## 8. Referencias

- Alomar, F. (2007). ANTIOXIDANTES: captadores de radicales libres o sinónimo de salud.
- Al-Tarifi, B. Y., Mahmood, A., Assaw, S., & Sheikh, H. I. (2020). Application of astaxanthin and its lipid stability in bakery product. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 8(3), 962-974.
- Appel, L. J., Moore, T. J., Obarzanek, E., Vollmer, W. M., Svetkey, L. P., Sacks, F. M., ... & Harsha, D. W. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *New England journal of medicine*, 336(16), 1117-1124.
- Avendaño-Romero, G. C., López-Malo, A., & Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 87-96.
- Becker M, Nunes G, Ribeiro D, Silva F, Catanante G, Marty J. Determination of the Antioxidant Capacity of Red Fruits by Miniaturized Spectrophotometry Assays. *J. Braz. Chem. Soc.* vol.30 no.5 2019.
- Beratto A., Agurto C., Castillo R., Freer J., Peña C., Troncoso N., Agurto A. (2017). Chemical Characterization and determination of the Antioxidant Capacity of two brown Algae with Respect to Sampling Season and Morphological structures using Infrared Spectroscopy and Multivariate Analyses. *Applied Spectroscopy*, volume 71, pages 2263-227. DOI: 10.1177/0003702817715654.
- Bidegain, M. A., Postemsky, P. D., González Matute, R., Figlas, N. D., Devalis, R., Delmastro, S., Pereyra, C., Curvetto, N. & Cubitto, M. A. (2014). Optimización de la producción del hongo medicinal Reishi (*Ganoderma lucidum*) para el desarrollo de nutraceuticos y fitoterapicos.
- Bloom, D. E., Cafiero, E., Jané-Llopis, E., Abrahams-Gessel, S., Bloom, L. R., Fathima, S., ... & Weiss, J. (2012). The global economic burden of noncommunicable diseases (No. 8712). Program on the Global Demography of Aging.
- Cáceres Paredes, J. R. (2021). La deshidratación de la Macroalga Yuyo (*Chondracanthus Chamissoi*) y su efecto en las características nutricionales de la harina.
- Cerón García, M. del C. (2002). Cultivo mixotrófico de la microalga *Phaeodactylum tricornutum* UTEX 640 (Tesis doctoral, Universidad de Almería). Recuperado de dialnet.uniroja.es
- Cerquera Buriticá, L. S., & Ibarra Ibarra, S. (2022). Extracción de polifenoles presentes en la cáscara de papa mediante el método de extracción Soxhlet a nivel de laboratorio.
- Choi, Y. H., & Verpoorte, R. (2019). Green solvents for the extraction of bioactive compounds from natural products using ionic liquids and deep eutectic solvents. *Current Opinion in Food Science*, 26, 87-93.
- Cikoš, A. M., Aladić, K., Velić, D., Tomas, S., Lončarić, P., & Jerković, I. (2023). Evaluation of ultrasound-assisted extraction of fucoxanthin and total pigments from three croatian macroalgal species. *Chemical Papers*, 77(3), 1545-1559.
- Consuegra Valenzuela, V. A. (2014). Extracción de antioxidantes polifenólicos desde macroalgas *Macrosystis pyrifera* y *Ulva rígida*.
- Cruz, B., Oliveira, A. I., & Pinho, C. (2023). Atividade antioxidante de extratos da alga *Undaria pinnatifida* (Wakame). *Proceedings of Research and Practice in Allied and Environmental Health*, 1(1), 34-34.
- De Castro, M. L., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of chromatography A*, 1217(16), 2383-2389.

- del Pilar Sánchez-Camargo, A., Pleite, N., Herrero, M., Cifuentes, A., Ibáñez, E., & Gilbert-López, B. (2017). New approaches for the selective extraction of bioactive compounds employing bio-based solvents and pressurized green processes. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 112-120.
- Dorantes-Salazar, E. L., Báez-González, J. G., Gastelúm-Martínez, É., Morales-Landa, J. L., & García-Marquez, E. (2023). Determinación de actividad antioxidante en alimentos funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 8(1), 643-649.
- Elejalde Guerra, J. I. (2001, June). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. In *Anales de medicina interna* (Vol. 18, No. 6, pp. 50-59). Arán Ediciones, SL.
- Estrada Canadell, Alberto. (2010) COMPARACIÓN DE LA ADSORCIÓN DEL BORO EN PERLAS DE ALGINATO Y ALGINATO/ALÚMINA. Departamento de Ingeniería Química, Universidad Politécnica de Cataluña.
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Corella, D., Arós, F., ... & Martínez-González, M. A. (2013). Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *New England journal of medicine*, 368(14), 1279-1290.
- Ezquerro-Brauer, J. M., & Chan-Higuera, J. E. (2021). Capacidad antioxidante y mecanismo de acción de pigmentos en organismos marinos. *CienciaUAT*, 15(2), 186-197.
- Fatima, I., Munir, M., Qureshi, R., Hanif, U., Gulzar, N., & Sheikh, A. A. (2023). Advanced methods of algal pigments extraction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(27), 9771-9788.
- Fernández, N. F. (2018). *Extraction and purification of bioactive compounds from sargassum muticum* (Doctoral dissertation, Universidade de Vigo).
- Fialho, A., Santos, F., Abreu, J., Fonte, P., & Baltazar, A. L. (2020). Fucoxantina: ¿a solução para a obesidade? *Acta Portuguesa de Nutrição*, (21), 42-45.
- Gelcich, S., Cinner, J., Donlan, C. J., Tapia-Lewin, S., Godoy, N., & Castilla, J. C. (2017). Fishers' perceptions on the Chilean coastal TURF system after two decades: problems, benefits, and emerging needs. *Bulletin of Marine Science*, 93(1), 53-67.
- GIBMAR, (2025). Incremento de la producción de fucoxantina en *P. tricornutum* mediante ingeniería metabólica para su uso en la industria nutracéutica. Proyecto FONDEF ID22I-10214. CONICYT.
- Gómez-Matos, Mislén, Martínez-Balmori, Dariellys, & Coll-García, Yamilet. (2023). Alginato y sus oligosacáridos a partir de algas pardas de arribazón: preparación y bioactividad agrícola. Una revisión. *Revista Cubana de Química*, 35(1), 46-67. Epub 17 de enero de 2023.
- Gonçalves Fernández, C. (2019). *Estudio de compuestos bioactivos presentes en macroalgas de las costas gallegas* (Doctoral dissertation, Universidade de Santiago de Compostela).
- Gondo, T. F., Jönsson, M., Karlsson, E. N., Sandahl, M., & Turner, C. (2023). Extractability, selectivity, and comprehensiveness in supercritical fluid extraction of seaweed using ternary mixtures of carbon dioxide, ethanol, and water. *Journal of Chromatography A*, 1706, 464267.
- Grand View Research, Inc. (2020). *Nutraceuticals Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product Type (Vitamins, Minerals, Herbal Extracts), By Distribution Channel (Online, Offline), By Region, And Segment Forecasts, 2020 - 2027*.
- Hurtado, A., Selgas Sanchis, R., & Serrano Aroca, Á. (2020). El alginato y sus inmensas aplicaciones industriales. *Nereis*, (12), 137-149.
- Instituto de Ciencia y Tecnología (ICYT). (2014). *Informe final: "Incorporación*

de la Industria Alimentaria de Consumo Humano Directo como Fuente de Agregación de Valor para Las Macroalgas Nacionales". Universidad Arturo Prat. [https://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89395\\_informe\\_final.pdf](https://www.subpesca.cl/fipa/613/articles-89395_informe_final.pdf)

- Kang Kyungsu, Choi Yongsoo, Pan Cheol-Ho, Kim Sang Min, Cha Kwang-Hyun & Kim Jin-Chul. (2020). Composition for preventing or treating disease caused by overproduction of dihydrotestosterone comprising fucoxanthin.
- Kawee-ai A, Kuntiya A, Kim SM. Anticholinesterase and antioxidant activities of fucoxanthin purified from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Nat Prod Commun*. 2013 oct;8(10):1381-6. PMID: 24354180.
- Landaeta, C. (2024). *Producción y escalamiento de una innovadora proteína alternativa Mycoseaweed con propiedades prebióticas y potencial bioactivo*. *Ciencia en Chile*. <https://www.cienciaenchile.cl/chile-pionero-en-biotecnologia-con-mycoseaweed-una-proteina-alternativa-del-futuro>
- Leonard, H. P. (2006). Nutraceuticos: componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 40(3), 20-28.
- Lin J., Zhao S., Huang B., Yin J., Li S., Ma Y., Ye J., Wang H., Ji X., Xu J., Wang Z. (2024). Enhanced fucoxanthin and biomass accumulation in *Phaeodactylum tricornutum* by combined effect of two plant hormones. *Food Bioscience*, volume 61. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104880>.
- Loja Farez, C. O. (2020). Obtención de un polímero biodegradable a partir del alginato de calcio extraído de la biomasa del alga parda (*Sargassum ecuadoreanum*). Universidad Politécnica Salesiana de Cuenca, Ecuador (Tesis de pregrado).
- López Martínez, C. R. (2021). *Atributos nutricionales, nutraceuticos y citotóxicos de tres especies de anonáceas: guanábana (Annona muricata L.), chirimoya (Annona cherimola MILL.) y chincuya (Annona purpurea Moc. et Sess)* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Chapingo).
- Lourenço-Lopes, C., Fraga-Corral, M., Jimenez-Lopez, C., Carpena, M., Pereira, A. G., García- Oliveira, P., & Simal-Gandara, J. (2021). Biological action mechanisms of fucoxanthin extracted from algae for application in food and cosmetic industries. *Trends in Food Science & Technology*.
- Machado, C. B., Maddix, G. M., Francis, P., Thomas, S. L., Burton, J. A., Langer, S., ... & Tonon, T. (2022). Pelagic *Sargassum* events in Jamaica: Provenance, morphotype abundance, and influence of sample processing on biochemical composition of the biomass. *Science of the Total Environment*, 817, 152761.
- Marmot, M. (2005). Social determinants of health inequalities. *The lancet*, 365(9464), 1099-1104.
- Márquez Porras, R., & Vásquez, J. A. (2020). El extractivismo de las algas pardas en el norte de Chile. *European Review of Latin American and Caribbean Studies*, 2020, num. 110, p. 101- 121.
- Martín Salinas, Carmen, & López-Sobaler, Ana M. (2017). Beneficios de la soja en la salud femenina. *Nutrición Hospitalaria*, 34(Supl. 4), 36-40
- Martínez, C. D., Vargas, C. R., & Arancibia, S. R. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev Fac Med*, 46(6), 229-235.
- Mizuki Takashima, Mototada Shichiri, Yoshihisa Hagihara, Yasukazu Yoshida & Etsuo Niki (2012) Capacity of fucoxanthin for scavenging peroxy radicals and inhibition of lipid peroxidation in model systems, *Free Radical Research*, 46:11, 1406-1412

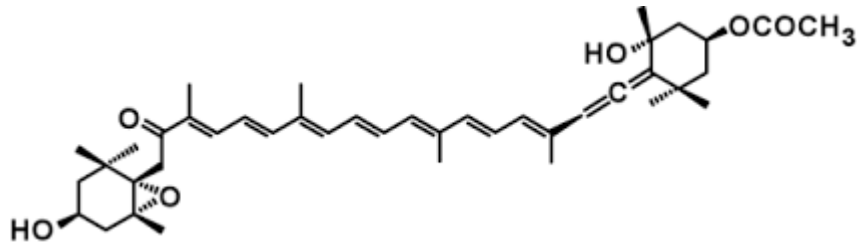
- Muñoz Muñoz, R. (2018). Cultivo de hongos marinos a partir de residuos de la industria algal rica en alginato.
- Ochoa Lizarzaburo, A. D. C. (2024). Efectividad nematocida in vitro del alga marina *Lessonia nigrescens* sobre el nemátodo *Meloidogyne* spp. en plantas de *Solanum lycopersicum* en el distrito de Ica.
- Organización Mundial de la Salud. (2018). Lucha contra las ENT: «mejores inversiones» y otras intervenciones recomendadas para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles. Organización Mundial de la Salud.
- Pang Y, Duan L, Song B, Cui Y, Liu X, Wang T. A Review of Fucoxanthin Biomanufacturing from *Phaeodactylum tricornutum*. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2024 Dec;47(12):1951-1972. doi: 10.1007/s00449-024-03039-8. Epub 2024 Jun 17. PMID: 38884655.
- Peña, M. A. G., Ramírez, J. D. L., Abascal, L. T., & Regules, A. E. O. (s.f) Los beneficios del consumo de carotenoides.
- Peñalba Mateos, O. (2016). Nuevas estrategias en el tratamiento de la obesidad y sus complicaciones. Efecto de la fucoxantina.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Régnier P, Bastias J, Rodriguez-Ruiz V, et al. Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* Prevents Oxidative Stress on Human Endothelial Cells without Toxicity. *Mar Drugs.* 2015;13(5):2857-2874. Published 2015 May 7doi:10.3390/md13052857
- Restrepo Garzón, N. (2015). Extracción, purificación y análisis del contenido de Fucoxantina en Algas Pardas del Caribe colombiano.
- Restrepo Montoya, C. (2022). Comparación entre extracciones por métodos no convencionales y extracción líquido-líquido (LLE) para el análisis de carotenoides de *Staphylococcus aureus* por HPLC-ms.
- Reyes Melinao, C. E., Concha Meyer, A., & Plaza Ramírez, A. (2021). *Evaluación de métodos de extracción asistida por ultrasonido y microondas para la liberación de compuestos de interés desde pomasa de tomate deshidratada* (Doctoral dissertation, Universidad de Talca (Chile). Escuela de Agronomía.).
- Rodríguez Perón, José Miguel, Menéndez López, José Rogelio, & Trujillo López, Yoel. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 30(1), 15-20.
- Rojas Jiménez, S., Lopera Valle, J. S., Uribe Ocampo, A., Correa Pérez, S., Perilla Hernández, N., & Marín Cárdenas, J. S. (2015). Consumo de nutraceuticos, una alternativa en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Biosalud*, 14(2), 91-103.
- Rojas, Tatiana, Fuentes Campos, María E., Contreras-López, Eliana, Gómez, Susana, & Muñoz-Jáuregui, Ana María. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de *Sanky* (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 258-267.
- Rosenfeld, S., Mendez, F., Calderon, M. S., Bahamonde, F., Rodríguez, J. P., Ojeda, J., Marambio, J., Gorny, M., & Mansilla, A. (2019). A new record of kelp *Lessonia spicata* (Suhr) Santelices in the Sub-Antarctic Channels: implications for the conservation of the "huirao negro" in the Chilean coast. *PeerJ*, 1-16
- Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161-168.

- Savic I., Savic Ivan, Ivanovska A., Vunduk J., Mihalj I., Svircev Z. (2024). Improvement of Alginate Extraction from Brown Seaweed (*Laminaria digitata* L.) and valorization of its remaining Ethanolic Fraction. *Marine Drugs*, volume 22. <https://doi.org/10.3390/md22060280>.
- Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24(8), 1583.
- Toro Rojas, M. T. (2012). Extracción de compuestos fenólicos de residuos de palta hass mediante EFS-CO<sub>2</sub>-etanol y su estabilización en hidrogeles de alginato de propiedades reológicas y térmicas definidas.
- Uribe, E., Vega-Gálvez, A., García, V., Pastén, A., López, J., & Goñi, G. (2019). Effect of different drying methods on phytochemical content and amino acid and fatty acid profiles of the green seaweed, *Ulva* spp. *Journal of Applied Phycology*, 31, 1967-1979.
- Vargas, M. P., Rodríguez, M. C., Salgado, C., Casallas, A. L., Vergel, J., & Laverde, D. (2023). Educación para la salud en Enfermedades Crónicas No Transmisibles: una revisión sistemática. *Revista de Educación en Ciencias de la Salud*, 20(1), 8.
- Vega Gálvez, Antonio, Tello Ireland, Cristian, & Lemus Mondaca, Roberto. (2007). SIMULACIÓN MATEMÁTICA DEL PROCESO DE SECADO DE LA GRACILARIA CHILENA (GRACILARIA CHILENSIS). *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 15(1), 55-64
- Venereo Gutiérrez, Justo R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), 126-133. Recuperado en 22 de agosto de 2024
- Viada Pupo, E., Gómez Robles, L., & Campaña Marrero, I. R. (2017). Estrés oxidativo. *Correo científico médico*, 21(1), 171-186.
- Vivanco, E. (2023). *Residuos de la salmonicultura para uso agrícola: Chile: experiencias en el uso de lodos de las pisciculturas* (Informe N.º SUP: 138562). Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. [https://www.bcn.cl/asesoriasparlamentarias/detalle\\_documento.html?id=81666](https://www.bcn.cl/asesoriasparlamentarias/detalle_documento.html?id=81666)
- Wang, S., Wu, S., Yang, G., Pan, K., Wang, L., & Hu, Z. (2021). A review on the progress, challenges and prospects in commercializing microalgal fucoxanthin. *Biotechnology advances*, 53, 107865.
- Wibowo, A. A., Shioi, Y., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. H. P. (2022). Simultaneous purification of fucoxanthin isomers from brown seaweeds by open-column and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1193, 123166.
- Yang, R., & Wei, D. (2020). Improving Fucoxanthin Production in Mixotrophic Culture of Marine Diatom *Phaeodactylum tricornutum* by LED Light Shift and Nitrogen Supplementation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00820>
- Yin, S., Niu, L., Shibata, M., Liu, Y., & Hagiwara, T. (2022). Optimization of fucoxanthin extraction obtained from natural by-products from *Undaria pinnatifida* stem using supercritical CO<sub>2</sub> extraction method. *Frontiers in Nutrition*, 9, 981176.
- Yupanqui Bacilio, C. I., & Torres Meza, A. J. (2018). Comportamiento reológico del hidrocoloide proveniente del cushuro (n. commune y iv. sphaerium) obtenido por liofilización y aire caliente.
- Zakir. (2018). Composition for treating obesity and method of using the same.
- Zapata, C., & Zapata, P. (2022). Método ORAC y su aplicación en la determinación de la capacidad antioxidante de bebidas fermentadas. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 121.

- Zenil Lugo, Nadia, Colinas León, Ma. Teresa, Bautista Bañuelos, Cecilio, Vázquez Rojas, Tito Roque, Lozoya Saldaña, Héctor, & Martínez Damián, M. Teresa. (2014). Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DPPH/ABTS en rosas en soluciones preservantes. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(6), 1029-1039
- Zhang W, Wang F, Gao B et al (2018) An integrated biorefinery process: Stepwise extraction of fucoxanthin, eicosapentaenoic acid and chrysolaminarin from the same *Phaeodactylum tricornutum* biomass[J]. *Algal Res* 32:193–200. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.002>
- Zheng Zhou, Miao Jinlai, Du Ning & Qu Changfeng. (2020). Method for extracting fucoxanthin from seaweed by using a four-zone simulated moving bed system

## 9. Anexos

### Anexo 1. Estructura Química de la molécula de Fucoxantina (Tomada de Restrepo, 2015)



### Anexo 2. Recuento celular y cuantificación de fucoxantina desde biomasa de *P. tricornutum* cultivada bajo condiciones estándar de cultivo.

Microalga	Replica	Recuento celular (cel/mL)	Biomasa seca (g/L)	Fucoxantina (mg gBS <sup>-1</sup> )
<i>P. tricornutum</i>	R1_1	8125000	0,5455	34,54
	R1_2	7642858	0,4761	35,11
	R2_1	7000000	0,4866	33,22
	R2_2	6812500	0,5825	30,23
	R3_1	6687500	0,6123	37,65
	R3_2	7750000	0,6378	29,64
<b>Promedios</b>		$7,34 \pm 0,58 \times 10^6$	$0,5568 \pm 0,0661$	$33,40 \pm 3,05$

### Anexo 3. Consumo eléctrico y tarifa mensual de cada equipo de secado.

Equipo	Potencia	Tiempo de trabajo (h)	Consumo eléctrico (kWh)	*Tarifa (CLP/kWh)	**Costo mensual (CLP)
Estufa ZFD-A5430A	3.1	19	58.90	9,217	285,724
		15	46.50	7,277	225,572
		12	37.20	5,821	180,457
Deshidratador Miobio IRD5	0.5	24	12.00	1,878	58,212
		22	11.00	1,721	53,361
		19	9.5	1,487	46,085
Estufa al Vacío BOV-V Biobase	1.4	72	100.80	15,774	488,981
		67	84.00	13,145	407,484
		60	93.8	14,678	455,024
Liofilizador BK-FD10P	0.37	45	16.65	2,606	80,769

**Nota:** (\*) Valor referencial se tomó de “*Tarifas de Suministro Eléctrico a Precio Traspasable a consumos > 350 kWh – 1 de noviembre de 2024*”; según lo establecido en el Artículo N° 191 del DFL N° 4 de 2006 del Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, en la Ley N° 21.185, en la Ley N° 21.472, en la Ley N° 21.667; en los Decretos N° 5T de 2024 y N° 10T de 2024, todos del Ministerio de Energía y en las Resoluciones Exentas N° 565 de 2023 y N° 315 de 2024 de la Comisión Nacional de Energía, CGE. (\*\*\*) Mes: 31 días. Elaboración propia.

**Anexo 4.** Cálculo de valor por cápsula fabricada de producto con añadido de fucoxantina. Comparando la biomasa de *L. spicata* natural con la biomasa residual industrial

$$\text{Ec. 5. } 60 \text{ cápsulas de fucoxantina } \left( \frac{30\text{mg}}{\text{porción}} \right) = 12 \text{ USD}$$

$$\text{Valor por cápsula} = \frac{12 \text{ USD}}{60 \text{ cápsulas}} = 0.20 \frac{\text{dólares}}{\text{cápsula}}$$

Para la biomasa residual industrial:

$$\text{Ec. 6. } \text{mgFx en 1T de BS} = 30,187 \frac{\mu\text{g Fx}}{\text{g BS}} \times \frac{1000000\text{g BS}}{1 \text{ T BS}} \times \frac{0,001 \text{ mg Fx}}{1\mu\text{g Fx}} = 30187 \frac{\text{mg Fx}}{\text{T BS}}$$

$$\text{Ec. 7. } \text{N}^\circ \text{ de cápsulas posibles a fabricar} = \frac{30187 \frac{\text{mg Fx}}{\text{T BS}}}{30 \frac{\text{mg}}{\text{cápsula}}} \approx 1006 \text{ Cápsulas}$$

$$\text{Ec. 8. } 1006 \text{ cápsulas} \times 0.20 \text{ dólares} \approx 201 \text{ dólares totales}$$

Para la biomasa residual simulada de *Lessonia spicata*:

$$\text{Ec. 9. } \text{mgFx en 1T de BS} = 47,66 \frac{\mu\text{g Fx}}{\text{g BS}} \times \frac{1000000\text{g BS}}{1 \text{ T BS}} \times \frac{0,001 \text{ mg Fx}}{1\mu\text{g Fx}} = 47600 \frac{\text{mg Fx}}{\text{T BS}}$$

$$\text{Ec. 10. } \text{N}^\circ \text{ de cápsulas posibles a fabricar} = \frac{47,660 \text{ mg Fx}}{30 \frac{\text{mg}}{\text{cápsula}}} \approx 1589 \text{ Cápsulas}$$

$$\text{Ec. 11. } 1589 \text{ cápsulas} \times 0.20 \text{ dólares} \approx 318 \text{ dólares totales}$$

Para la biomasa seca de *P. tricornutum*:

$$\text{mgFx en 1T de BS} = 33400 \frac{\mu\text{g Fx}}{\text{g BS}} \times \frac{1000000\text{g BS}}{1 \text{ T BS}} \times \frac{0,001 \text{ mg Fx}}{1\mu\text{g Fx}} = 3,34 \times 10^7 \frac{\text{mg Fx}}{\text{T BS}}$$

$$\text{N}^\circ \text{ de cápsulas posibles a fabricar} = \frac{3,34 \times 10^7 \text{ mg Fx}}{30 \frac{\text{mg}}{\text{cápsula}}} \approx 1,11 \times 10^6 \text{ Cápsulas}$$

**Anexo 2.** Determinación del grado de pureza y caracterización química y funcional de la fucoxantina proveniente de la nueva cepa sobreproductora seleccionada de *P. tricornutum*.

Nombre Característica	Cepa Nativa ( $\mu\text{M TE}$ )	Cepa Sobreproductora ( $\mu\text{M TE}$ )
CAOX por DPPH	62,14 $\pm$ 13,51	62,64 $\pm$ 9,17
CAOX por ABTS	11,95 $\pm$ 4,01	12,28 $\pm$ 1,09
CAOX por FRAP	31,33 $\pm$ 1,53	27,67 $\pm$ 3,06